



UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETECCIÓN CUALITATIVA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN
LECHE CRUDA COMERCIALIZADA EN EL CANTÓN NARANJAL,
PROVINCIA DEL GUAYAS

AROCA RIVERA NOEMI ELIZABETH

MACHALA
2016



UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETECCIÓN CUALITATIVA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS
EN LECHE CRUDA COMERCIALIZADA EN EL CANTÓN
NARANJAL, PROVINCIA DEL GUAYAS

AROCA RIVERA NOEMI ELIZABETH

MACHALA
2016



UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRABAJO DE TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

DETECCIÓN CUALITATIVA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE CRUDA
COMERCIALIZADA EN EL CANTÓN NARANJAL, PROVINCIA DEL GUAYAS

AROCA RIVERA NOEMI ELIZABETH
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

ALVAREZ DIAZ CARLOS ARMANDO

Machala, 18 de octubre de 2016

MACHALA
2016

Nota de aceptación:

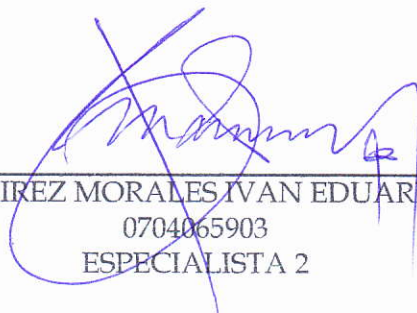
Quienes suscriben ALVAREZ DIAZ CARLOS ARMANDO, ALVAREZ DIAZ CARLOS ARMANDO, RAMIREZ MORALES IVAN EDUARDO y PIMBOSA ORTIZ DIOSELINA ESMERALDA, en nuestra condición de evaluadores del trabajo de titulación denominado DETECCIÓN CUALITATIVA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE CRUDA COMERCIALIZADA EN EL CANTÓN NARANJAL, PROVINCIA DEL GUAYAS, hacemos constar que luego de haber revisado el manuscrito del precitado trabajo, consideramos que reúne las condiciones académicas para continuar con la fase de evaluación correspondiente.



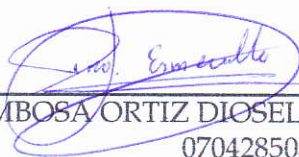
ALVAREZ DIAZ CARLOS ARMANDO
0706734597
TUTOR



ALVAREZ DIAZ CARLOS ARMANDO
0706734597
ESPECIALISTA 1



RAMIREZ MORALES IVAN EDUARDO
0704065903
ESPECIALISTA 2



PIMBOSA ORTIZ DIOSELINA ESMERALDA
0704285055
ESPECIALISTA 3

Machala, 18 de octubre de 2016

Urkund Analysis Result

Analysed Document: AROCA RIVERA NOEMI ELIZABETH.pdf (D21449944)
Submitted: 2016-08-19 21:13:00
Submitted By: caalvarez@utmachala.edu.ec
Significance: 1 %

Sources included in the report:

TESIS 10-8-2016.docx (D21434604)

Instances where selected sources appear:

1

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, AROCA RIVERA NOEMI ELIZABETH, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado DETECCIÓN CUALITATIVA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE CRUDA COMERCIALIZADA EN EL CANTÓN NARANJAL, PROVINCIA DEL GUAYAS, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que él asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 18 de octubre de 2016



AROCA RIVERA NOEMI ELIZABETH
0940901309

“DETECCIÓN CUALITATIVA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE CRUDA COMERCIALIZADA EN EL CANTÓN NARANJAL, PROVINCIA DEL GUAYAS”.

Noemí Elizabeth Aroca Rivera, Autor.

Dr. Carlos Armando Álvarez Díaz PhD, Tutor.

RESUMEN

La leche cruda es un producto ampliamente consumido por tanto se espera cumpla con parámetros de calidad e inocuidad, pero esto no es siempre posible pues al tratarse de un producto fácilmente contaminable sobre todo a nivel microbiológico y químico (residuos de antibióticos) causado por el uso inapropiado e indiscriminado de antibióticos que pueden dejar residuos en este alimento, generando con esto problemas a nivel de salud pública, industria de procesamiento de subproductos lácteos e incluso llegar a decrecer el consumo y comercialización de la misma. Por tanto esta investigación tiene por objetivo detectar cualitativamente residuos de antibióticos (Betalactámicos, Tetraciclinas y Sulfonamidas) en leche cruda comercializada en diferentes expendios en el Cantón Naranjal, Provincia del Guayas. Para lo cual se utilizó como metodología de cuantificación de residuos de antibióticos el Kit AuroFlow™ BTS Combo Strip Test de la marca Bioo Scientific, que es un ensayo de flujo lateral rápido y cualitativo diseñado para detectar betalactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas en la leche cruda de vaca. En este estudio fueron analizadas setenta y dos muestras de leche cruda obtenidas en seis diferentes expendios comerciales del cantón Naranjal, de las cuales se obtuvieron 14 muestras positivas a residuos de antibióticos, lo que equivale al 19,4% del total de las muestras de leche cruda; y, 58 muestras negativas a residuos de antibióticos, lo que equivale al 80,6%; por tanto de las 14 muestras de leche cruda positivas a residuos de antibióticos resultantes del muestreo: 11 muestras son positivas únicamente a la familia de Betalactámicos, lo que equivale al 78,6%; 3 muestras son positivas a las familias de antibióticos Betalactámicos y Sulfonamidas, lo que equivale al 21,4%; y, un 0 % de las muestras fueron positivas a la familia de antibióticos Tetraciclinas; este estudio presentó un valor de 0,039 ($p < 0.05$), lo que indica que existe diferencia significativa entre la identificación del expendio y la detección cualitativa de residuos de antibióticos en las muestras de leche positivas en la prueba del chi-cuadrado. En este estudio se detectó la presencia de residuos de antibióticos (Betalactámicos y Sulfonamidas) en el 19,4% (14/72) de muestras de leche cruda comercializada en seis expendios en el Cantón Naranjal, Provincia del Guayas de acuerdo a resultados obtenidos del empleo del método AuroFlowBTS Combo Strip Test Kit, la presencia de antibióticos en la leche cruda, detectada en un período de 5 días en la fase intermedia del período de investigación involucró a 14 litros de 1910 vendidos (18,67 %) lo que permite inferir que todos o la mayoría estarían contaminados con presencia de residuos de antibióticos en ese tiempo. Por tanto se recomienda implementar capacitaciones para la concientización de los propietarios de fincas lecheras sobre el respeto del tiempo de retiro de la comercialización y consumo de la leche producida por vacas que están siendo tratadas

farmacológicamente ya sea para mastitis u otras patologías, además de programar, por parte de las instituciones responsables, AGROCALIDAD-MSP, capacitaciones a productores y consumidores sobre las consecuencias que tiene la ingestión de leche con residuos de antibióticos en la salud pública.

Palabras claves: residuos, antibióticos, leche, cruda, Auroflow.

"QUALITATIVE DETECTION OF ANTIBIOTIC RESIDUES IN RAW MILK MARKETED IN THE CANTON NARANJAL, GUAYAS PROVINCE".

Noemí Elizabeth Aroca Rivera, Autor.

Dr. Carlos Armando Álvarez Díaz PhD, Tutor.

ABSTRACT

Raw milk is a product widely consumed therefore expected to comply with quality standards and safety, but this is not always possible because being a easily contaminated product especially microbiological and chemical level (antibiotic residues) caused by the use inappropriate and indiscriminate use of antibiotics that can leave residues in the food, creating problems with this level of public health, dairy processing industry by-products and even get to decrease consumption and marketing of it. Therefore this research aims to qualitatively detect residues of antibiotics (beta-lactams, tetracyclines and sulfonamides) in raw milk sold in different outlets in the Canton Naranjal, Guayas Province. For which it was used as a method for quantification of antibiotic residues Kit AuroFlow™ BTS Combo Strip Test brand Bioo Scientific, which is a test fast and qualitative lateral flow designed to detect beta-lactams, tetracyclines and sulfonamides in raw cow's milk . In this study they were analyzed seventy two raw milk samples obtained from six different commercial outlets in the canton Naranjal, of which 14 antibiotic residues positive samples were obtained, equivalent to 19.4% of total milk samples raw; and 58 negative samples antibiotic residues, equivalent to 80.6%; therefore the 14 raw milk samples positive antibiotic residues resulting from sampling: 11 samples are positive only beta-lactam family, equivalent to 78.6%; 3 samples are positive to the families of antibiotics beta-lactams and sulfonamides, equivalent to 21.4%; and 0% of samples were positive to the family of antibiotics Tetracycline; This study presented a value of 0.039 ($p < 0.05$), indicating that there is significant difference between the sale and identifying the qualitative detection of antibiotic residues in milk samples test positive chi-square. In this study the presence of residues of antibiotics (beta-lactams and sulfonamides) was detected in 19.4% (14/72) of samples of raw milk marketed in six outlets in the Canton Naranjal, Guayas Province, according to results obtained from AuroFlowBTS employment Strip Combo Test Kit method, the presence of antibiotics in raw milk, detected in a period of 5 days in the middle phase of the investigation period involved 14 liters of 1910 sold (18.67%) which allows inferring that all or most would be contaminated with residues of antibiotics at the time. Therefore it is recommended to implement training for awareness of the owners of dairy farms on respect for the time of withdrawal of the marketing and consumption of milk produced by cows being treated pharmacologically either mastitis or other diseases, as well as programming, by the institutions responsible, AGROCALIDAD-MSP, training producers and consumers about the consequences of ingestion of milk with antibiotic residues in public health.

Keywords: residues, antibiotics, milk, raw, Auroflow.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	12
II.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1.	Generalidades sobre leche.....	14
2.1.1.	Definición.....	14
2.1.2.	Composición y Valor Nutricional.....	14
2.1.3.	Calidad de la leche y su importancia.....	15
2.2.	Utilización de antibióticos en producción animal	15
2.2.1.	Definición de Antibiótico y Residuos de antibióticos.....	15
2.2.2.	Principales antimicrobianos empleados en ganado vacuno lechero..	16
2.2.2.1.	Antibióticos Betalactámicos	16
2.2.2.1.1.	Penicilinas.....	16
2.2.2.1.2.	Cefalosporinas.....	17
2.2.2.2.	Tetraciclinas.....	19
2.2.2.3.	Sulfonamidas.....	20
2.2.3.	Usos.....	21
2.2.3.1.	Para prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas.....	21
2.2.3.2.	Como estimulantes del crecimiento.....	22
2.2.4.	Límites Máximos permitidos.....	23
2.2.5.	Efectos de la presencia de residuos de antibióticos en la leche.....	24
2.2.5.1.	A nivel de industria láctea.....	25
2.2.5.2.	A nivel de salud pública.....	25
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1.	Materiales	28
3.1.1.	Localización del estudio	28
3.1.2.	Materiales	28
3.1.3.	Instrumentos.....	28
3.1.4.	Población.....	28
3.1.5.	Muestras	28
3.1.6.	Variables a analizar.....	29
3.1.7.	Medición de las variables	29
3.2.	Metodología	29
3.2.1.	Recolección de la muestras	30
3.2.2.	Procesamiento de las muestras.....	30
IV.	RESULTADOS.....	32
V.	CONCLUSIONES.....	40

VI. RECOMENDACIONES.....	41
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	42
ANEXO 1. Base material y desarrollo de la técnica para determinación de antibióticos en leche.	46
ANEXO 2. Hojas de registro de trabajo de campo	48
ANEXO 3. Tabla de total de leche comercializada durante los días de muestreo..	50

ÍNDICE DE GRÁFICOS.

Gráfico 1. Porcentaje de familias de antibióticos más utilizadas en las UPAs, encontrados en la investigación.	22
Gráfico 2. Interpretación visual de resultados de las tiras reactivas del Kit AuroFlow TM.....	31
Gráfico 3. Representación de resultados de presencia de antibióticos en las muestras de leche cruda.....	32
Gráfico 4. Relación entre la variable identificación del expendio y resultado de la muestra.....	33
Gráfico 5. Distribución de los resultados positivos de acuerdo a las familias de antibióticos detectadas por el Kit AuroFlowTM.....	35
Gráfico 6. Resultado de muestreo: tira izquierda negativa, tira central positiva a dos tipos de antibióticos, tira derecha control contaminado.....	35
Gráfico 7. Relación entre la variable identificación del expendio y detección cualitativa de residuos de antibióticos en las muestras leche positivas.	36
Gráfico 8. Forma de almacenamiento y transporte de la leche cruda.....	38
Gráfico 9. Representación de los litros de leche cruda comercializados y contaminados muestreados durante el trabajo de campo.....	38

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Composición de la leche.....	14
Tabla 2. Principales penicilinas y sus características farmacológicas.....	16
Tabla 3. Principales cefalosporinas y sus características farmacológicas.	17
Tabla 4. Principales tetraciclinas y sus características farmacológicas.	19
Tabla 5. Principales sulfonamidas y sus características farmacológicas.....	20
Tabla 6. Límites máximos de residuos de antibióticos aceptados en la leche según el Codex Alimentarius.....	23
Tabla 7. Límites de detección para interpretación visual de los diferentes antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas del Kit AuroFlowTM BTS Combo Strip Test.	23
Tabla 8. Total de muestras de leche cruda analizadas y resultados de presencia de residuos de antibióticos.	32
Tabla 9. Variable identificación del expendio y resultado de la muestra, Tabulación cruzada.	33
Tabla 10. Prueba de chi-cuadrado.....	34
Tabla 11. Detalle de la detección cualitativa de residuos de antibióticos en las muestras leche positivas.	35
Tabla 12. Variable identificación del expendio y detección cualitativa de residuos de antibióticos en las muestras leche positivas, Tabulación cruzada.....	36
Tabla 13. Prueba de chi-cuadrado.....	37
Tabla 14. Detalle de forma de almacenamiento y transportación de la leche cruda.	37

I. INTRODUCCIÓN

La leche es uno de los alimentos más completos, pues, reúne casi todos los componentes alimenticios como macronutrientes (proteínas, lípidos y grasas) y micronutrientes (minerales y vitaminas) (1), frecuentemente forma parte de una dieta balanceada y sana (2), pues, contribuye al adecuado crecimiento y desarrollo de diversas funciones vitales para el organismo (1,2), esenciales para niños y adultos (3).

Considerando que la calidad e inocuidad de los productos que llegan al consumidor es importante, más aún de alimentos primordiales como la leche y sus subproductos que al ser muy susceptibles a la contaminación (4), es posible que no estén exentos de contaminantes microbiológicos y químicos como residuos de medicamentos veterinarios (5,6), que pueden presentarse debido a su uso común en ganadería en vacas productoras de leche asociados al tratamiento de diferentes patologías entre ellas la mastitis y afecciones podales (cojeras) (7,8), por consiguiente pueden persistir en la leche y sus subproductos, lo que representarían una posible amenaza a la salud pública (7,9).

Para garantizar la seguridad alimentaria ciertos países se rigen por normas internacionales impuestas por la Unión Europea (10) o el Codex Alimentarius, entre ellos Ecuador, por lo que se hace necesario el control por contaminación de antibióticos de la leche para consumo humano a nivel de expendios comerciales populares.

El problema que representa la ingestión de residuos de antibióticos que permanecen en productos alimenticios como la leche cruda (11), provocan preocupación a nivel de salud pública por las afectaciones que produce, entre ellas, reacciones de hipersensibilidad (12), trastornos intestinales por reacciones tóxicas (13), aparición de cepas de microorganismos resistentes a los antibióticos que dificultan el tratamiento de enfermedades infectocontagiosas (12,13), daños por toxicidad, teratogenicidad, y carcinogenicidad (12,13) entre otras.

La problemática de la presencia de residuos de antibióticos en la leche cruda puede deberse a la inadecuada elección, uso no apropiado e irracional de los antibióticos para tratar patologías como la mastitis (14,15), incumplimiento del período de retiro de los fármacos por parte del productor (5), faltas en el descarte de la leche de vacas tratadas o únicamente descarte de la leche del cuarto mamaria tratado, administración de antibióticos de uso humano para el tratamiento en animales y falta de supervisión profesional veterinaria (8), entre otros, factores posiblemente agravados por el deficiente o inexistente control a nivel de los expendios comerciales.

Lo antes expresado puede, a posteriori, generar consecuencias que van desde efectos adversos por presencia de residuos de antibióticos en productos comestibles (9), interferencia durante el procesamiento tecnológico de derivados lácteos (5) y aumento en manifestación de fenómenos de resistencia bacteriana (16); que contribuyen por tanto a la creación de una imagen negativa ante el consumidor que debilita el sector comercial de la leche y sus subproductos y produce pérdidas económicas (17).

Aunque la realización de análisis más exhaustivos sobre residuos de medicamentos requieren de herramientas más tecnológicas como Cromatografía Líquida Combinada con Espectrometría de Masas (10), detección Ultravioleta (17), estas no siempre son accesibles por distancia y costo de manera que en la actualidad han sido desarrolladas herramientas más novedosas y económicas de detección cualitativa de presencia de

residuos de antibióticos como son los sistemas de identificación microbiológica (18) y los Kits rápidos de detección (9).

Estos métodos prácticos y al alcance de los productores pueden asegurar que la leche producida para su expendio cumpla con la debida inocuidad; en el particular caso del análisis de la leche cruda encontramos ya en el mercado técnicas que detectan cualitativamente los residuos de antibióticos presentes en ella como el caso del Kit AuroFlow™.

El presente trabajo tiene por objeto realizar muestreo de leche cruda obtenida de seis diferentes expendios comerciales del cantón Naranjal, provincia del Guayas, para determinar si la leche cruda que está siendo comercializada en el cantón tiene presencia de residuos de antibióticos y por tanto representa o no un riesgo para la salud de los potenciales consumidores.

Objetivo general

Detectar cualitativamente residuos de antibióticos (Betalactámicos, Tetraciclinas y Sulfonamidas) en leche cruda comercializada en diferentes expendios en el Cantón Naranjal, Provincia del Guayas.

Objetivos específicos

- ✓ Detectar cualitativamente la presencia de residuos de antibióticos (Betalactámicos, Tetraciclinas y Sulfonamidas) en leche cruda comercializada en diferentes expendios en el Cantón Naranjal, Provincia del Guayas mediante la técnica del Kit AuroFlow™.
- ✓ Identificar el tipo de antibiótico que se presenta con mayor frecuencia en las muestras de leche.
- ✓ Cuantificar la cantidad de litros que pueden presentarse como contaminados con residuos de antibióticos.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1. Generalidades sobre leche.

2.1.1. Definición.

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (19), el término leche se define como la secreción mamaria normal de animales lecheros, que es obtenida mediante uno o más ordeños, que no debe sufrir ningún tipo de adición o extracción y será destinada al consumo en forma de leche líquida o con una elaboración posterior.

Esta secreción además debe estar exenta de calostro, ser obtenida mediante los métodos de ordeño normales, a partir de vacas lecheras, sanas, bien alimentadas, para lograr un producto íntegro y fresco, que cumpla con las características físicas, microbiológicas e higiénicas establecidas (20,21).

En cuanto al término leche cruda, el Servicio Ecuatoriano de Normalización INEN (22), lo describe de la siguiente forma: leche que inmediatamente posterior a su ordeño no haya sufrido ninguna forma de calentamiento que supere temperaturas de más de 40°C.

Además de no haber sufrido ningún tratamiento de saneamiento que le permita asegurar una mejor conservación, por lo que se debería controlar su producción y comercialización para evitar los riesgos que pudiesen ocasionar en la salud (21).

2.1.2. Composición y Valor Nutricional.

La leche es un alimento importante en la dieta humana que, por su elevado valor nutritivo (6), se valora como un alimento casi completo por su riqueza energética, poseer proteínas de fácil asimilación así como lípidos, ser excelente fuente de minerales (calcio, fósforo, etc.) y varias vitaminas, al tiempo que es deficiente en hierro y vitaminas D y C (1,23). La leche es el alimento básico de todos los mamíferos neonatos lactantes en su periodo postnatal y de las personas adultas (2).

Desde el punto de vista dietético la leche es el alimento puro más próximo a la perfección, pues, proporciona nutrientes esenciales al ser una importante fuente energética, proporcionar proteínas de alta calidad y grasas. Su principal proteína, la caseína, contiene aminoácidos esenciales; por otra parte, los lípidos y la lactosa constituyen un importante aporte energético; además, contribuye a la ingestión de diversos nutrientes al ser una fuente de calcio, fósforo, magnesio, selenio, vitamina A, tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B12) y ácido pantoténico (24).

Desde el punto de vista químico (Tabla 1), la leche bovina está compuesta principalmente por agua (87%), grasa ($\pm 3,5\%$), proteínas ($\pm 3,2\%$), lactosa ($\pm 5,3\%$) y minerales (sólidos totales) que determinan sus valores nutricionales y económicos.

Tabla 1. Composición de la leche. Cont.

FACTOR	MALA	REGULAR	BUENA	EXCELENTE
Grasa %	< 3.0	3.0 – 3.3	3.3 – 3.5	> 3.5
Proteína %	< 2.6	2.6 – 2.8	2.8 – 3.2	> 3.2

Lactosa %	< 4.6	4.6 – 4.9	4.9 – 5.3	> 5.3
Sólidos Totales %	< 11.3	11.3 – 11.8	11.8 – 12.0	> 12.2
Sólidos no grasos %	<8.0	8.0 – 8.4	8.4 – 8.7	> 8.7
Densidad (g/ml)	< 1.028	1.028 – 1.029	> 1.029	> 1.029
Recuento Bacteriano UFC/ml (x 1000)	> 300	100 – 300	50 – 100	< 50
CCS/ml en tanque (x 1000)	> 400	200 – 400	100 – 200	< 100

Parra, 2003.

2.1.3. Calidad de la leche y su importancia.

Características bacteriológicas y físico-químicas, son determinantes para que la leche sea catalogada como de buena calidad, entre ellas tenemos las siguientes (24):

- ✓ Contenidos adecuados de grasa, minerales, proteína, sólidos totales, y vitaminas,
- ✓ Presentar características organolépticas aptas como olor y sabor normales,
- ✓ Ser exenta de sustancias extrañas ya sean calostro, cuerpos extraños o sedimentos,
- ✓ No poseer sustancias inhibitoras ni residuos químicos de antibióticos, pesticidas y otros,
- ✓ Ausencia total de patógenos (brucelosis, tuberculosis, paratuberculosis y salmonella, entre otros),
- ✓ no contener un número excesivo de microorganismos (<50.000 UFC/ml),

Además de las características ya mencionadas otros factores determinantes que influyen en la calidad final de la leche son: factores genéticos de las vacas productoras y su estado de salud y nutrición óptimos, buenas prácticas de ordeño, condiciones climáticas y correcto manejo del producto hasta su llegada al consumidor (24).

2.2. Utilización de antibióticos en producción animal

2.2.1. Definición de Antibiótico y Residuos de antibióticos.

La palabra antibiótico abarca a todo compuesto químico producido por microorganismos o aquellos que se producen mediante síntesis, utilizados por su capacidad de inhibir el crecimiento o favorecer la destrucción de bacterias u otros microorganismos (12), son empleados para tratar múltiples patologías originadas por diversos microorganismos tales como la neumonía, infecciones podales, la mastitis, entre otras enfermedades, generalmente administrados a los animales en diferentes formas, siendo las más comunes las inyecciones parentales (25).

Cuando estos medicamentos ingresan al organismos estos son metabolizados por diferentes vías, dando como resultado final, los residuos de antibióticos que corresponden a toda sustancia química o biológica, que fue administrada o consumida

por el animal y se eliminara o permanecerá como metabolito en la leche, pudiendo causarle efectos nocivos al consumidor (21).

2.2.2. Principales antimicrobianos empleados en ganado vacuno lechero.

2.2.2.1. Antibióticos Betalactámicos

La familia de antibióticos betalactámicos es una de las mejor conocidas y ampliamente utilizadas tanto en medicina humana como en veterinaria, debido a su amplia utilidad, su bajo nivel de toxicidad, elevada eficiencia, bajo costo y variada gama de presentación farmacéuticas (26).

Los antibióticos betalactámicos actúan sobre unas enzimas de la pared bacteriana que se conocen como proteínas ligadas a la penicilina o PLP. Algunas de estas proteínas son las transpeptidasas, endopeptidasas y carboxipeptidasas; entre estas específicamente la muramoilpentapéptido carboxipeptidasa sobre la cual actúa este tipo de antibiótico, pues es esencial para el entrecruzamiento y formación de la pared celular bacteriana (26).

Estos antibióticos bactericidas inhiben la formación de la pared celular dando paso a la producción de una pared celular débil, impidiéndole soportar la presión del medio interior bacteriano, y que posteriormente durante el proceso de división celular no resistirá y finalmente se producirá la bacteriólisis (25,26).

Por sus variadas características la familia de antibióticos betalactámicos son utilizados para el tratamiento de una amplia gama de patologías locales y sistémicas siempre y cuando sean producidas por bacterias sensibles a estos fármacos como el caso de estreptococos y estafilococos entre otros, entre la familia de betalactámicos se incluyen las penicilinas y las cefalosporinas (25).

2.2.2.1.1. Penicilinas.

Fármacos de amplio y reducido espectro, que poseen una acción bactericida, primordialmente contra bacterias Gram positivas tales como: *Streptococcus sp*, *Staphylococcus sp*, Gram negativas: *Corynebacterium sp*, *Bacillus sp*, *Actinomyces sp*. Anaerobios Gram positivos y Gram negativos, espiroquetas, enterobacterias y bacterias productoras de β -lactamasas (25), información sobre las principales penicilinas y sus características farmacológicas se detallan en la tabla 2.

Tabla 2. Principales penicilinas y sus características farmacológicas. Cont.

Tipo	Fármaco	Indicaciones comunes	Dosis y vía de administración	Tiempo de retiro
Penicilinas Naturales	Penicilina G Procaínica	Infecciones como queratoconjuntivitis, infecciones de vías respiratorias	10000 a 66000 UI/Kg, cada 12 a 24 horas. Vía SC, IV, Intramamaria.	Leche: 3 a 5 días. Carne: 10 días.
	Penicilina G Sódica	Infecciones por bacterias sensibles a la	10000 a 20000 UI/Kg, cada 6 horas.	Leche: 3 a 4 días.

		penicilina. Neumonía, infecciones de las vías respiratorias.	Vía IV, IM.	Carne: 10 días.
	Penicilina G Potásica	Infecciones por bacterias sensibles a la penicilina, Neumonía.	10000 a 20000 UI/Kg, cada 6 horas. Vía IV, IM.	Leche: 3 a 4 días. Carne: 10 días.
	Penicilina G Benzatínica	Infecciones por bacterias sensibles a la penicilina.	10000 a 40000 UI/Kg, cada 48 a 72 horas. Vía IV, SC.	Leche: 4 a 5 días. Carne: 14 a 30 días.
Aminopenicilinas	Amoxicilina	Es una penicilina semi – sintética de amplio espectro con actividad contra las bacterias Gram positivas y Gram negativas.	4 a 7 mg/Kg de peso vivo, cada 12 a 24 horas. Vía Intramuscular.	Leche: 60 horas. Carne: 12 días.
Penicilinas resistentes a Betalactamasas	Cloxacilina	Tratamiento y profilaxis de mastitis.	200 a 500 mg, por dos días. Vía Intramamaria.	Leche: 2 a 5 días. Carne: 10 días.
	Oxacilina	Para mastitis localizada cerca de la cisterna.	500 mg, cada 12 a 14 horas. Vía Intramamaria.	Leche: 24 horas.

Cholca, 2011

2.2.2.1.2. Cefalosporinas.

Las cefalosporinas, son fármacos producidos por el hongo *Cephalosporium acremonium*, reconocidos por actuar sobre microorganismos que presentan resistencia a las beta-lactamasas, poseen al igual que las penicilinas una acción bactericida, pues, su mecanismo de acción es interferir con la síntesis de la pared celular del microorganismo (25). Este grupo tiene una gran variedad de antibióticos, por lo que se han planteado diversas clasificaciones en base a su estructura química, características farmacológicas como se detalla en la tabla 3:

Tabla 3. Principales cefalosporinas y sus características farmacológicas. Cont.

Fármaco	Actividad antibacteriana	Indicaciones comunes	Dosis y vía de administración	Tiempo de retiro
CEFALOSPORINAS DE PRIMERA GENERACIÓN				

Cefalexina	Similar a la cefalotina, pero menos activa contra betalactamasas, producida por estafilococos.	Infecciones de vías urinarias	Vacas: 11 – 33 mg/Kg, vía oral, cada 6 -8 -12 horas	
Cefalotina	Amplio espectro Gram positivos y Gram negativos. Especialmente impermeable para ser atacada por betalactamasas de estafilococos.	Infecciones causadas por microorganismos sensibles en vías respiratorias, urinarias y piel.	Vacas: 55 mg/Kg, vía subcutánea, cada 6 -8 horas	Leche: 0 horas Carne: 4 días
CEFALOSPORINAS DE SEGUNDA GENERACIÓN				
Cefamandol	Más activo contra ciertos microorganismos Gram positivos (<i>Enterobacter</i> , <i>Proteus</i> , <i>E. coli</i> y <i>Klebsiella</i>). Algunos cocos Gram positivos son menos sensibles	Infecciones con Gram negativos que amenazan la vida.	15 - 30 mg/Kg, vía intramuscular, cada 8 horas	Leche: 12 horas Carne: 3 días
Cefoxitina	Menos activa que la cefamandol contra la mayoría de Gram positivos y muchos Gram negativos. Mas contra <i>Serratia</i> y <i>Bacteroides fragilis</i> .	Tratamiento de infecciones sensibles.	Becerras: 20 mg/Kg, vía intravenosa, cada 4 -6 horas	
CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACIÓN				
Ceftiofur	De notable volumen de distribución, Activa contra microorganismos Gram positivos y Gram negativos.	Activa contra enfermedades respiratorias en la mayoría de las especies.	1 mg/Kg de peso con una frecuencia de 24 horas cada 3 a 5 días.	Leche: 12 horas Carne: 2 días
Cefoperazona	De notable volumen de distribución. Activa contra microorganismos Gram positivos y sobre todo enterobacterias.	Enfermedades respiratorias, en mastitis e infecciones sensibles.	Vacas: 5 – 10 mg/Kg.	
CEFALOSPORINAS DE CUARTA GENERACIÓN				
Cefquinoma	Son resistentes a las cefalosporinas de tercera generación	Tratamiento de infecciones sensibles.	Vacas: 6 mg/Kg.	Leche: 24 horas

	las betalactamasas estafilocólicas			Carne: 5 días
--	------------------------------------	--	--	---------------

Cholca, 2011

2.2.2.2. Tetraciclinas

Grupo de antibióticos de amplio espectro, que ejercen su efecto sobre microorganismos sensibles mediante la inhibición de la síntesis proteica, atacando principalmente los ribosomas bacterianos, aunque solo son eficaces cuando los microorganismos están en fase de crecimiento; este conjunto de antibióticos producidos por los actinomicetos *Streptomyces sp*, tienen efecto sobre microorganismos aerobios y anaerobios, bacterias Gram negativas y positivas, clamidias, espiroquetas, micoplasmas y rickettsias, y algunos tipos de protozoos (25,27), información sobre las principales tetraciclinas y sus características farmacológicas se detallan en la tabla 4.

Tabla 4. Principales tetraciclinas y sus características farmacológicas. Cont.

Fármaco	Actividad antibacteriana	Indicaciones comunes	Dosis y vía de administración	Tiempo de retiro
Clortetraciclina	Su actividad es contra Anaplasmosis	Utilizado para el tratamiento de enteritis o neumonías.	3500g/animal/día	Leche: 4 a 9 días Carne: 21 días
Oxitetraciclina	Antibiótico de amplio espectro y de efecto bacteriostático que actúa en la inhibición del metabolismo del ácido glutámico en las células bacterianas.	Esta recomendado en infecciones del tracto respiratorio, urogenital y digestivos	La dosis recomendada es de 5 a 10 mg/kg peso, vía IM, IV, con una de frecuencia 24 horas.	Leche: 3 a 8 días Carne: 14 días
Tetraciclinas	Es activa contra cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Utilizada para el tratamiento de infecciones respiratorias como la neumonía.	10 mg por kilo de peso vivo cada 12 horas, vía IM e IV.	Leche: 7 días Carne: 16 a 19 días
Doxiciclina	Su acción antibacteriana se basa en la fijación de la sub unidad ribosómica 30S por medio de uniones quelantes con los grupos fosfato en el ARN mensajero, impidiendo la fijación del ARN de	Su espectro de acción comprende Gram negativas como: <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella spp</i> . Y en bacterias Gram positivas	10 mg por kilo de peso vivo.	Leche: 4 a 6 días Carne: 24 días

	transferencia en el ARN mensajero.	como <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Mycoplasma spp</i> , <i>Anaplasmas</i> .		
Minociclina	Es activa contra cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> y bacterias anaerobias y Gram negativas facultativas	Indicado para el tratamiento de infecciones respiratorias en los animales.	5 a 10 mg/kg peso, vía IM, IV.	Leche: 9 a 10 días Carne: 24 a 30 días

Cholca, 2011

2.2.2.3. Sulfonamidas

Las sulfonamidas son fármacos de acción bacteriostática al emplearse solas, pero en conjunto con la trimetoprima, logran potenciar su acción a bactericidas. Su mecanismo de acción se basa en alterar el metabolismo de la bacteria impidiendo la replicación bacteriana al competir con el Ácido Paraamino-benzoico (PABA) que participa en la biosíntesis del ácido tetrahidrofólico, impidiendo con esto la conformación del ácido fólico, mismo que es necesario para el crecimiento de la célula bacteriana (25,26).

Son eficientes para la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas causadas por microorganismos que sintetizan su propio ácido fólico, dentro de este grupo de microorganismo se cuentan a algunas bacterias grampositivas, entre ellas, ciertas cepas de estreptococos y estafilococos, *Bacillus anthracis*, *Clostridium tetani* y *perfringens* y muchas cepas de Nocardia, también presentan una actividad in vitro contra algunas especies gramnegativas, incluyendo algunas cepas de *Shigella*, *Salmonella*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pasteurella* y *Proteus*, inclusive poseen actividad contra algunas rickettsias y protozoarios (Toxoplasma, coccidios) (25,26).

Información más detallada sobre las principales sulfonamidas se encuentra en la tabla 5.

Tabla 5. Principales sulfonamidas y sus características farmacológicas. Cont.

Fármaco	Actividad antibacteriana	Indicaciones comunes	Dosis y vía de administración	Tiempo de retiro
Sulfametazina (sulfadimidina)	Su actividad antimicrobiana actúa sobre <i>Salmonella sp.</i>	Indicado para el tratamiento de neumonías y difteria. No así para el tratamiento de la Coccidiosis bovina.	150 247 mg/Kg, vía oral, Intravenosa	Leche: 96 horas Carne: 10 a 12 días
Sulfatiazol	Más activo contra ciertos microorganismos	Indicado para infecciones respiratorias.	Dosis de mantenimiento 66mg/kg. Vía	Leche: 72 horas

	Gram + (<i>Enterobacter</i> , <i>Proteus</i> , <i>E. coli</i> , y <i>Klebsiella</i>)		oral, frecuencia 4 a 8 horas.	Carne: 9 a 10 días
Sulfadimetoxina	Eficaz contra <i>Streptococcus sp</i> , <i>Staphylococcus sp</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella sp</i> , <i>Klebsiella sp</i> , <i>Proteus sp</i> , <i>Shigella</i> <i>sp</i> .	Se usa para el tratamiento de infecciones respiratorias, genitourinaria s, entéricas y de los tejidos blandos	Dosis inicial 55mg/Kg vía oral o IV. Y después de 27,5mg/Kg/día, vía oral durante 5 días.	Leche: 72 a 80 horas Carne: 9 a 10 días
Sulfacloropiridazina	Tiene excelente acción contra <i>Echerichia coli</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> , <i>Salmonella suis</i>	Indicado para infecciones respiratorias.	88 a 110mg/Kg, cada 12-24 horas, vía Intravenosa u oral.	Leche: 24 a 48 horas Carne: 7días
Trimetoprim (diaminopirimidinas)	De amplio espectro aunque con muy poca actividad contra anaerobios	Tratamiento de infecciones sensibles	8 a 40 mg/Kg, vía IV.	Leche: 24 a 48 horas Carne: 7días

Cholca, 2011

2.2.3. Usos.

Los antibióticos pueden ser utilizados con los siguientes fines:

2.2.3.1. Para prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas.

De acuerdo a la investigación realizada por Cholca (25), sobre Análisis de la situación del uso de medicamentos (antibióticos y antiparasitarios) en las unidades productivas de los centros de acopio UPAs y enfriamiento de leche Santo Domingo N° 1 y Puliza, los sistemas de producción lechera, al tener problemas de prevalencia e incidencia de enfermedades en sus animales, han recurrido al uso de Betalactámicos (39%), Aminoglucósidos (27%), Macrólidos (23%), Tetraciclinas (7%), Fenicoles (3%) y Sulfonamidas (1%), los mismos que son indicados para bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas resistentes a los Betalactámicos, su representación se demuestra en el gráfico 1 a continuación.

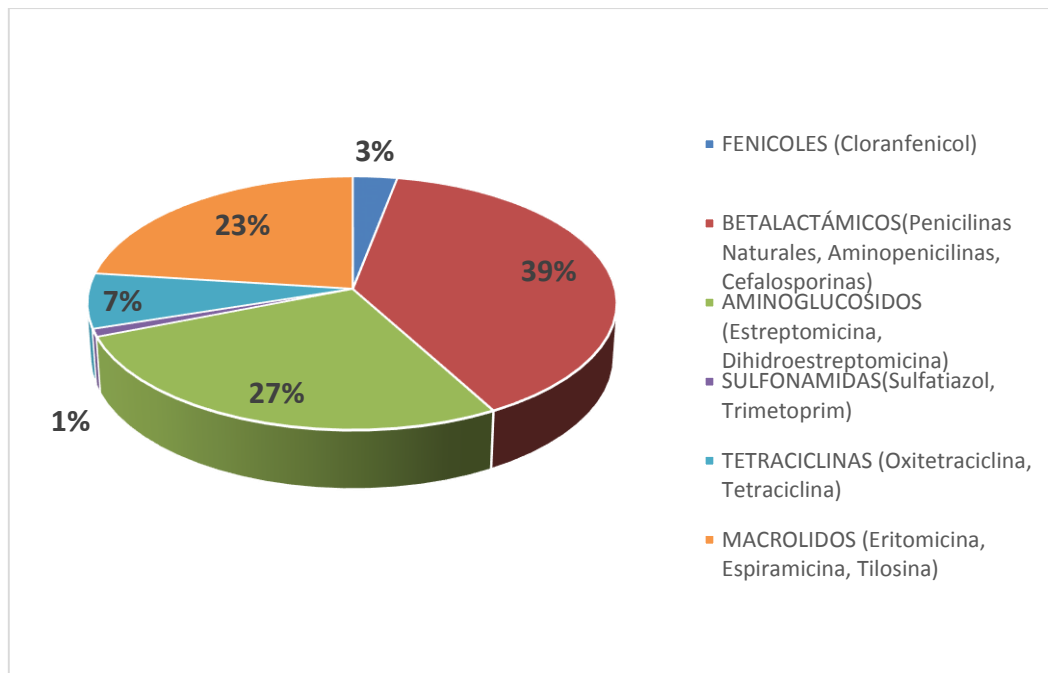


Gráfico 1. Porcentaje de familias de antibióticos más utilizadas en las UPAs (Cholca, 2011)

Como detalla el gráfico anterior es muy frecuente el uso de antibióticos en el tratamiento de diversas patologías, entre ellas, la mastitis clínica o subclínica para la cual se administra más comúnmente penicilina, ya sea por vía intramamaria o parenteral, la problemática con estos tratamientos radica en que mediante la administración por vía intramamaria, el medicamento es solo absorbido en una pequeña parte que pasa al torrente sanguíneo, otra se inactiva por la leche, pero en una mayor proporción la parte restante es excretada por la leche incluso en los ordeños posteriores, lo que genera gran probabilidad de generar residualidad en la leche (28).

En vacas destinadas a producción láctea, los agentes antimicrobianos como los antibióticos, no son únicamente utilizados para el tratamiento de patologías como la mastitis, sino también para otras enfermedades como las de índole respiratoria, metritis, laminitis, etc. Aunque el uso prolongado de antibióticos se da más comúnmente en el tratamiento de patologías en vacas secas, cuando se administra a vacas en gestación, los residuos inclusive pueden pasar a la leche materna en diferentes niveles

2.2.3.2. Como estimulantes del crecimiento.

Es común que animales empleados para la producción de alimento (carne, leche, huevos), en cierta etapa de su vida como el crecimiento y producción reciban determinados medicamentos, de estos es habitual la administración de tetraciclinas no solo para el tratamiento de enfermedades sino también como promotores de crecimiento (29,30).

La presencia de antibióticos en más bajas concentraciones o concentraciones subterapéuticas, en mayor medida se ha visto reducida por ser una práctica catalogada como prohibida en algunos países como los del grupo de la Unión Europea (31), aunque en ciertas partes aún se sigan usando para este propósito, Hosnia et al. y Fajardo et al. (29,30) recomiendan que esta práctica debe ser mayormente controlada y que la prohibición por ley debe ser el camino a seguir.

2.2.4. Límites Máximos permitidos.

El Comité del Codex Alimentarius (32), define el término Límite Máximo para Residuos de Medicamentos Veterinarios (LMRMV), como aquella concentración máxima resultante del uso del medicamento veterinario, generalmente expresada en medidas como mg/kg o µg/kg en base al peso fresco, que es legalmente permitida por la Comisión del Codex Alimentarius para que se presente en la superficie o dentro de un alimento; y, que por tanto al ser ingerida por el consumidor no constituya ningún riesgo para su salud (10).

Según el Servicio Ecuatoriano de Normalización INEN (22) la norma NTE INEN CODEX CAC/MRL 2, es la que determina y establece los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios que están permitidos en la leche.

De acuerdo al Codex Alimentarius (33), los límites máximos de residuos (LMR) presentes en la leche, según la última actualización en la 38ª Reunión de la Comisión del Codex Alimentarius, son los expuestos en la tabla 6.

Tabla 6. Límites máximos de residuos de antibióticos aceptados en la leche (Codex Alimentarius, 2012).

Especie	Tejido	Antibiótico	Límite Máximo	Año de adopción
Vacuno/Vaca	Leche	Amoxicilina	4 µg/kg	2012
Vacuno/Vaca	Leche	Bencilpenicilina procaínica	4 µg/l	1999
Vacuno/Vaca	Leche	Ceftiofur	100 µg/l	1999
Vacuno/Vaca	Leche	Clortetraciclina Oxitetraciclina Tetraciclina	100 µg/l	2003
Vacuno/Vaca	Leche	Sulfadimidina	25 µg/l	1995

Por su parte el Manual del Kit AuroFlow™ BTS Combo Strip Test, método de análisis aplicado en el presente estudio, determina que los límites de detección de antibióticos de su prueba son los expuestos en la tabla 7.

Tabla 7. Límites de detección para interpretación visual de los diferentes antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas del Kit AuroFlow™ BTS Combo Strip Test. Cont.

Antibióticos Betalactámicos			
Penicilinas		Cefalosporinas	
Antibiótico (LRM)	Límite de detección (ug/L)	Antibiótico (LRM)	Límite de detección (ug/L)
Penicilina G (4)	3 - 4 ppb	Ceftiofur (100)	75 - 100 ppb
Ampicilina (4)	4 - 5 ppb	Cefapirina (60)	6 - 15 ppb
Amoxicilina (4)	4 - 5 ppb	Cefazolina (50)	35 - 50 ppb
Cloxacilina (30)	4 - 8 ppb	Cefaperazona (50)	5 - 20 ppb

Oxacilina (30)	4 - 8 ppb	Cefquinona (20)	10 – 20 ppb
Dicloxacilina (30)	5 - 8 ppb	Cefalonina (10)	4 - 8 ppb
Nafcilina (30)	15 - 30 ppb		
Antibióticos Tetraciclinas			
Antibiótico (LRM)		Límite de detección (ug/L)	
Tetraciclina (100)		50 - 100 ppb	
Clortetraciclina (100)		15 - 50 ppb	
Doxiciclina (100)		5 - 20 ppb	
Oxitetraciclina (100)		50 - 70 ppb	
Antibióticos Sulfonamidas			
Antibiótico (LRM)		Límite de detección (ug/L)	
Sulfmethazine (100)		25-50 ppb	
Sulfamethoxazole (100)		25-50 ppb	
Sulfadiazine (100)		50-75 ppb	
Sulfathiazole (100)		75-100 ppb	
Sulfadimethoxine (100)		50-75 ppb	
Sulfaquinoxaline (100)		75-100 ppb	
Sulfapyridine (100)		2-4 ppb	
Sulfamethoxypridazine (100)		3-4 ppb	
Sulfamethizole (100)		40-50 ppb	
Sulfamerazine (100)		25-50 ppb	
Sulfachloropyridazine (100)		25-50 ppb	

Corp BS, 2013.

2.2.5. Efectos de la presencia de residuos de antibióticos en la leche.

Un tema de preponderancia en la salud pública actual, es la presencia de residuos de antibióticos y otros medicamentos en la leche, que por sus implicaciones en salud humana representan un riesgo potencial para los consumidores por su toxicidad y peligrosidad; por ser causantes potenciales de resistencia bacteriana ante los antimicrobianos lo que provoca que los tratamientos de enfermedades humanas y

animales sean ineficaces, además de causar problemas tecnológicos durante la fabricación de productos derivados del lácteo (7,8,15,18).

Un claro ejemplo del grado de afectación es mencionado por Ortiz (28), quien manifiesta que la leche de un animal tratado con 200mg de penicilina G, es capaz de contaminar la leche de 8000 vacas, si no se cumplen los respectivos tiempos de retiro y la correspondiente separación de la leche contaminada.

Es conocido que los residuos de medicamentos que se presentan en alimentos de origen animal pueden decrecer al someterse a cocción pero su estabilidad es dependiente de factores como tiempo y temperatura de cocción (35), así se demuestra en estudios realizados donde inclusive con la aplicación tratamiento térmico en el caso de la penicilina solo un 8% de actividad se pierde luego del proceso de pasteurización normal, aunque si es sometida a tratamientos más severos como a 90°C por 30 minutos, solo se destruye en un máximo de 20% de su actividad (28); como lo corroboran Tian et al. (36), quienes manifiestan que antibióticos como betalactámicos y tetraciclinas son más termolabiles al contrario que las sulfonamidas que tienen más termoestabilidad.

2.2.5.1. A nivel de industria láctea.

Según Barrera (31), las industrias manufactureras de queso, mantequilla y yogurt, son las más afectadas por la presencia de residuos de antibióticos en la leche, puesto que aparte de que es considerada ilegal la sola presencia de residuos, estos generan problemas como:

- Reducción en la producción de acidez, afectación directa en el aroma y sabor característico durante la manufactura de la mantequilla.
- Disminuye la conservación de agua y complica la maduración de los quesos, impidiendo el cuajado de la leche, que dará como resultado una textura blanda y sabor amargo.
- En el procesado del yogurt, ciertas bacterias empleadas para su producción, resultan tener sensibilidad ante la presencia de antibióticos, lo cual genera problemas como que el cultivo usado presente cambios morfológicos que lo transformen en cultivo indeseable pudiendo provocar que el producto final se convierta en peligroso e inutilizable para el consumidor.

2.2.5.2. A nivel de salud pública.

Los residuos de medicamentos al encontrarse en los alimentos en bajas concentraciones, a posterior pueden generar problemas por su efecto acumulativo, lo que hace que persista la duda de que el hombre a través de la ingestión regular de pequeñas cantidades de residuos antibióticos que contaminan la leche, alcance niveles que puedan producir efectos como toxicidad de tipo crónico y otras manifestaciones tóxicas, razón suficiente para prohibir la presencia de éstos en los alimentos (31).

Según Cholca (25), algunos problemas que pueden causar al ser humano los residuos de medicamentos en la leche son los efectos tóxicos que afectan de manera directa e indirecta.

En cuanto a efectos tóxicos directos, se describen varios síntomas clínicos como: alergias graves, efectos teratogénicos y carcinogénicos, grados de toxicidad en hígado, médula, oído, riñón y sangre, esto a causa de la utilización de antibióticos aun en dosis terapéuticas, (25), debido a que los residuos químicos y las toxinas de hongos generalmente tienen gran capacidad acumulativa en tejido graso e hígado, se desencadenan cuadros específicos de toxicidad o se transforman en un factor de riesgo que aumenta la ocurrencia de condiciones neoplásicas.

Por su parte, el grupo de efectos tóxicos indirectos son los asociados a las reacciones alérgicas, producidas posterior a un período de sensibilización, que causa que en el sistema retículo endotelial los anticuerpos contra la droga actúen como antígeno, dando como resultado manifestaciones desproporcionadas en relación a las dosis ingeridas. Además de fenómenos de resistencia bacteriana dentro de los que se incluyen incremento de la prevalencia de bacterias resistentes, transmisión de los patógenos resistentes a los humanos a través del contacto directo con animales, o a través del consumo de agua y alimentos contaminados, la transferencia a los humanos de genes de resistencia bacteriana y el aumento en la incidencia de infecciones en humanos causadas por patógenos resistentes, lo que ocasiona fallas potenciales en los tratamientos en humanos y animales (25,37).

Un informe presentado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre el tema de resistencias antimicrobianas insiste en la necesidad de reducir el uso de antibióticos en explotaciones ganaderas, calificando inclusive el tema como “amenaza mundial”(38). Esto basado en que el uso no selectivo de antibióticos en animales puede traer dos problemas:

“En primer lugar, que la bacteria desarrolle una mutación que la haga resistente a los antibióticos, que de ser patógena y al ingerirla nos expondrá a padecer posibles enfermedades para las que los antibióticos no causaran ya ningún efecto. En segundo lugar, las bacterias pueden transferir los genes resistentes a los antibióticos a otras bacterias próximas, entre ellas las que provocan enfermedades en los seres humanos”. Estos fenómenos, junto a otros similares, han dado lugar al desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos o también llamadas “super bacterias” que mantienen en vilo a la comunidad científica (38), lo que ocasionaría que en caso de que se presente una infección bacteriana en humanos haya menos o ningún fármaco capaz de ser eficaz para el tratamiento de la misma (39).

Aparte de lo manifestado inclusive pueden alterar la microbiota intestinal normal, inducir el desarrollo de microorganismos patógenos y en ciertos casos disminuir la síntesis de determinadas vitaminas (37).

Los residuos de antibióticos Betalactámicos en los humanos ocasiona que se presentan reacciones adversas como: broncoespasmo, dermatitis exfoliativa, erupciones maculopapulares, fiebre, urticariana, vasculitis, síndrome de Stevens-Johnson y anafilaxia (25).

Se ha determinado que pequeñas cantidades de antibióticos en la leche, tan ínfimas como 0.003 UI (unidades internacionales) de penicilina/ml, pueden afectar a una persona que sea alérgica a dicho antibiótico, la OMS inclusive establece que para el caso de administración oral de 40 UI de penicilina, esta dosis puede provocar graves reacciones, lo que permite suponer que no deberían permitirse la presencia de trazas en la leche (37).

Por su parte el consumo de residuos de tetraciclinas en la leche pueden causar efectos nocivos sobre la salud humana (27,40), como: resistencia bacteriana, toxicidad en órganos importantes como hígado y riñones; provocar además a nivel digestivo reacciones adversas como diarrea, irritación, molestia por dolor abdominal y epigástrico, náuseas y vómitos, a nivel cutáneo pueden producir fotosensibilidad por exposición al sol (25). A dosis elevadas administradas por periodos cortos o largos, puede ocasionar problemas de teratogenicidad al ser administrada durante el primer trimestre de gestación, llegar a deprimir el crecimiento óseo además de otras alteraciones esqueléticas en lactantes prematuros y producir manchas amarillentas en piezas dentales de niños (25,27).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Localización del estudio

El presente estudio se realizó en el Cantón Naranjal, ubicado al suroeste de la Provincia del Guayas, cuyos límites son:

- Al norte con los Cantones Durán y El Triunfo.
- Al sur con el Cantón Balao.
- Al este con las Provincias de Cañar y Azuay.
- Al oeste con el Golfo de Guayaquil.

Altitud Media: 785 m s. n. m.

Coordenadas: 2°40'22"S 79°36'54"O

Temperatura promedio: 25° C

Precipitación promedio anual: 960 mm.

3.1.2. Materiales. (Anexo 1)

- Guantes.
- Gorro.
- Mascarilla.
- Tubos de ensayo.
- Gradilla
- Jarra plástica de 1 litro.
- Micro pipeta desechable de 200 ml.
- Puntas de pipetas.
- Tablero.
- Hojas de registro (**Anexo 2**).
- Esferos.
- Marcador permanente.
- Mandil.
- Gel refrigerante.
- Cooler.

3.1.3. Instrumentos.

Kit AuroFlow™ BTS Combo Strip Test.

3.1.4. Población

La población de bovinos de leche del Cantón Naranjal de acuerdo al censo realizado en el 2010 por el INEC, MAGAP y SICA es de 2.331, con una producción promedio de 9.814 litros de leche/día (41).

El Cantón tiene una población de 69.0 mil hab., potenciales consumidores de la leche cruda comercializada en el Cantón Naranjal, Provincia del Guayas.

3.1.5. Muestras

Las muestras de leche cruda fueron recolectadas en diferentes expendios en el Cantón Naranjal, seleccionados en forma aleatoria:

$$n = \frac{Npqz^2}{pqz^2 + (N-1)l^2}$$

$$n = \frac{[9814 \times 0.95 \times 0.05 \times (1.96)^2]}{[0.95 \times 0.05 \times (1.96)^2 + (9814 - 1) \times (0.05)^2]}$$

$$n = \frac{(1790.82)}{(0.182476 + 24,53)}$$

$$n = 1790,82 / 24,71$$

$$n = 72 \text{ litros de leche}$$

3.1.6. Variables a analizar

Se analizaron las siguientes variables:

- Presencia o no de antibióticos en las muestras de leche cruda.
- Tipo de residuo de antibiótico presente en las muestras de leche cruda (Betalactámicos, Tetraciclinas y Sulfonamidas).
- Lugar de expendio (6 expendios comerciales).
- Forma de almacenamiento de la leche (tanques de recolección de aluminio y tanques de recolección de plástico).
- Forma de transporte de los tanques de leche (camioneta, camión termorefrigerado, motocicleta).
- Cantidad de litros de leche que comercializan

3.1.7. Medición de las variables

Los residuos de fármacos presentes en las muestras de leche fueron detectados mediante el análisis con tiras reactivas del Kit AuroFlow™ BTS Combo Strip Test de la marca Bioo Scientific.

3.2. Metodología

El estudio es del tipo descriptivo e investigativo, y de laboratorio; y, aplicó el siguiente método (Bioo Scientific Corp. 34):

Kit AuroFlow™ BTS Combo Strip Test, es un ensayo de flujo lateral rápido y cualitativo diseñado para detectar betalactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas en la leche cruda de vaca. Esta prueba utiliza un nuevo antibiótico que enlaza proteínas, que son altamente activas en leche fría y eliminan la necesidad de usar un bloque de calentamiento (incubadora). El ensayo utiliza un formato competitivo basado en oro coloidal, que requiere el uso de dos componentes:

1. Pocillos de microtitulación que contienen los reactivos liofilizados para detectar las familias de antibióticos: betalactámicos, sulfonamidas y tetraciclinas.
2. Tiras reactivas con líneas de captura específicas para cada familia de antibiótico.

La muestra de leche se agrega a un recipiente de reacción de plástico transparente y se utiliza para volver a resuspender los reactivos liofilizados a un color rosa uniforme en la

parte inferior de los pocillos de microtitulación, la leche se incubó brevemente a temperatura ambiente por tres minutos para permitir que las proteínas antibióticas en las partículas de oro atraigan cualquier antibiótico presente en la leche. Después se inserta la tira de prueba en el pocillo de muestra, permitiendo que las partículas de oro que no forman complejos con los antibióticos presentes en la leche se unan a su respectiva línea de prueba, formando una señal (línea roja) en esa posición.

3.2.1. Recolección de la muestras

Para la toma de muestras se realizó el siguiente procedimiento (**Anexo 1**):

- a) La unidad de muestreo fue conseguida a razón de 1 litro de leche por cada uno de los seis expendios a muestrearse, en intervalos de un día de descanso.
- b) Una vez obtenido el respectivo litro a muestrearse fue colocado en una jarra de capacidad de 1 litros, en la cual se introdujo un cucharón recolector dos veces en la leche vaciando su contenido dentro del mismo recipiente de recolección.
- c) Se mezcló el contenido para su homogenización.
- d) Se extrajo la muestra introduciendo el cucharón hasta la mitad del recipiente de recolección.
- e) Vaciar el contenido del cucharón en un envase estéril evitando derrames.
- f) Tapar el envase, identificar la muestra y colocarlo en un lugar limpio y seco.
- g) Una vez tomadas las muestras, se colocaron en un cooler con gel refrigerante, para su transporte inmediato al laboratorio para su análisis.

3.2.2. Procesamiento de las muestras (Bioo Scientific Corp.34) (Anexo 1)

1. Con unas tijeras, corte con cuidado el número de pocillos de reacción y extraiga las tiras apropiadas para el número de muestras que se pondrá a prueba y deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5$). Asegúrese de que los pocillos no utilizados permanecen firmemente tapados. Rápidamente vuelva a almacenar los componentes restantes a 4°C . Para mantener el tiempo de ensayo no se ejecute más de 6 pruebas al mismo tiempo.
2. Agitar la leche ($4-25^{\circ}\text{C}$) vigorosamente, agregue la muestra en un pequeño tubo de polipropileno o un frasco limpio (1,5 ml - 15 ml).
3. Coloque una punta de pipeta desechable al final de la micropipeta.
4. Inserte la punta de la pipeta en la muestra de leche, presione el émbolo de la pipeta a la primera parada, luego suelte lentamente el émbolo para aspirar 200 μL de leche en la punta de la pipeta.
5. Coloque la punta de la pipeta (cargada con leche) en un pocillo de reacción y presione el émbolo para expulsar completamente la muestra de leche en el pocillo. Cuando se analice más de una muestra, tenga en cuenta el orden en el que se colocaron en los pocillos.

6. Utilizando la misma punta de la pipeta, aspire la muestra de arriba abajo unas 10 veces para volver a suspender por completo las partículas de reacción liofilizada en la leche, evitando las burbujas. La muestra debe tomar un color rosa uniforme. Después de la resuspensión de las partículas, retire y deseche la punta de la pipeta.
7. Incubar la muestra durante 3 minutos a temperatura ambiente (25 ° C + / - 5). Durante este tiempo, etiquete una o más tiras de prueba según sea necesario para el número de muestras que se están probando.
8. Después de 3 minutos, insertar la parte inferior de la tira de prueba en el pocillo que contiene la muestra de leche. La tira debe ser insertada de tal manera que las flechas apunten hacia abajo. Asegúrese de que la tira está orientada verticalmente (no se incline hacia un lado) e introdúzcala hasta el fondo del pozo. Use un cronómetro durante 4 minutos.
9. Después de 4 minutos, retire la tira y colóquela sobre una superficie horizontal, con el lado sin marcar hacia arriba.
10. Examine visualmente la intensidad de la señal en cada línea de la prueba y compárela con la intensidad de la línea C.

3.2.3. Interpretación de los resultados:

La señal en una línea de prueba que es más intensa que la línea C indica que la presencia de la familia correspondiente de antibióticos es negativa en la muestra de leche.

La señal en una línea de prueba que es igual o menos intensa que la señal en la línea C indica la presencia de esa categoría respectiva de los antibióticos en la muestra de leche.

Para mejor entendimiento a continuación se puede visualizar el gráfico 2, sobre lectura e interpretación visual de las tiras reactivas del Kit AuroFlow™.

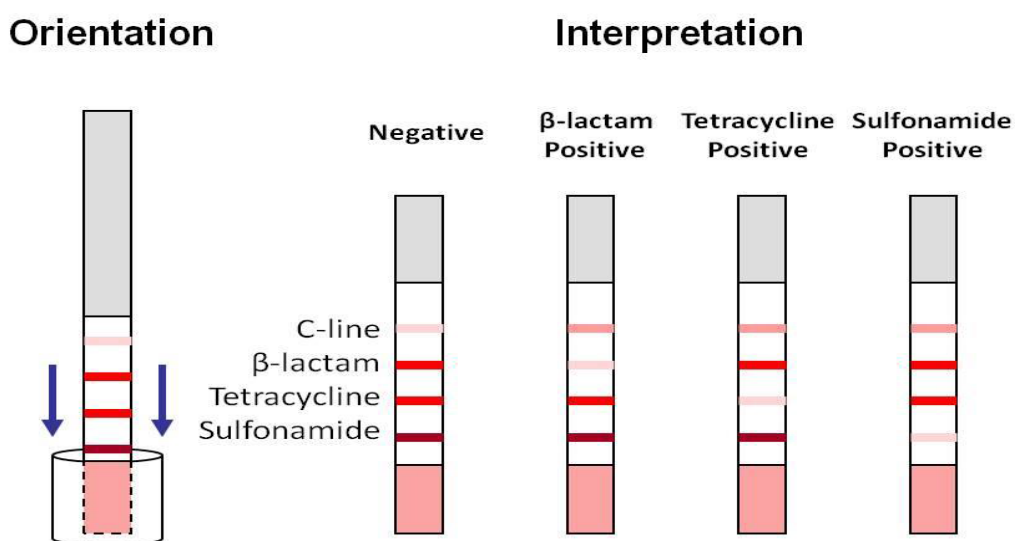


Gráfico 2. Interpretación visual de resultados de las tiras reactivas del Kit AuroFlow™ (Bioo Scientific Corp.34)

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los datos obtenidos como resultados fueron almacenados en una base de datos del software estadístico IBM SPSS Statistics versión 22.0 para Windows, mediante análisis estadísticos descriptivos y tablas cruzadas, para determinar el grado de significación estadística.

4.1. Detección de positividad de residuos de antibióticos presentes en las muestras de leche cruda.

Del total de 72 muestras de leche cruda obtenidas en 6 expendios del cantón Naranjal, analizadas mediante el Kit AuroFlow™, basado en los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios para la leche iguales o inferiores a los límites permitidos por el Codex Alimentarius en que se rige la normativa ecuatoriana, se obtuvieron 14 muestras positivas a residuos de antibióticos, lo que equivale al 19,4% del total de las muestras de leche cruda; y, 58 muestras negativas a residuos de antibióticos, lo que equivale al 80,6%; tal como se detalla en la tabla 8 y se representa en el gráfico 3.

Tabla 8. Total de muestras de leche cruda analizadas y resultados de presencia de residuos de antibióticos.

RESULTADO OBTENIDO	NÚMERO DE MUESTRAS	PORCENTAJE
Positivo a residuos de antibióticos	14	19,4 %
Negativo a residuos de antibióticos	58	80,6 %
Total	72	100%

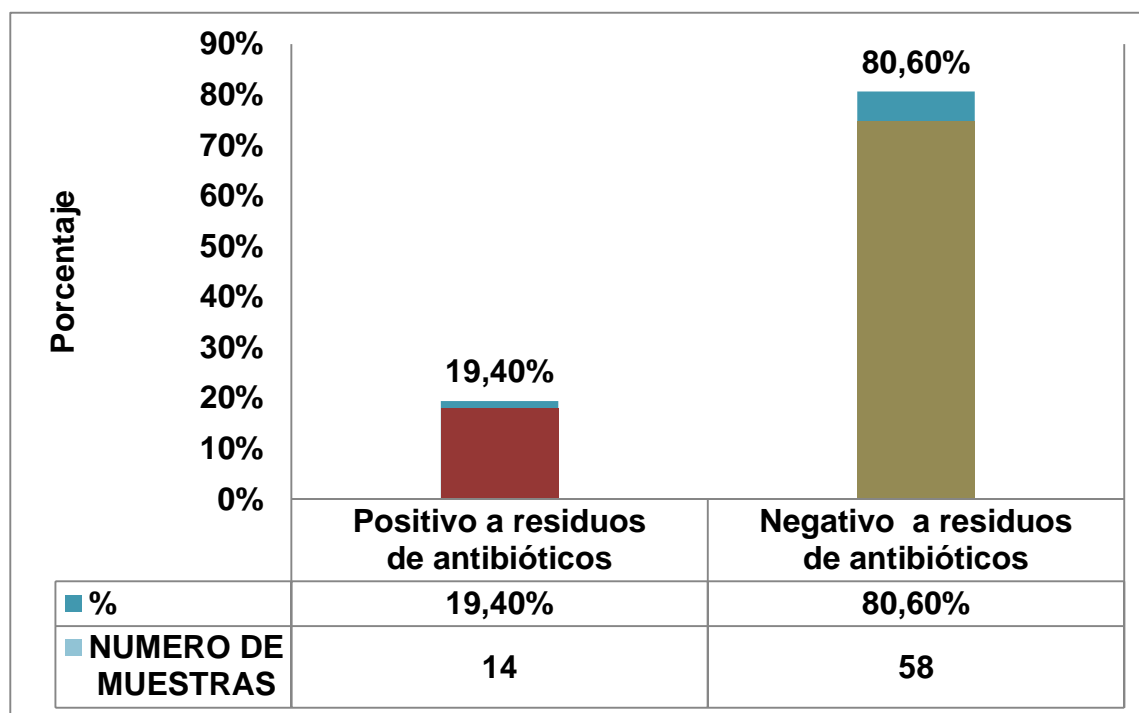


Gráfico 3. Representación de resultados de presencia de antibióticos en las muestras de leche cruda.

La significación estadística entre estas variables, fue determinada mediante el análisis de Tablas Cruzadas y Prueba de Chi-cuadrado de Pearson, resultando que:

Del total de 58 muestras que dieron como resultado negativo, 9 muestras que equivalen a un 15,5% resultaron negativas con su valor correspondiente en los expendios uno, cinco y seis; 10 muestras que equivalen a un 17,2% resultaron negativas con su valor correspondiente en los expendios dos y tres; y, 11 muestras que equivalen a un 19% resultaron negativas con su valor respectivo en el expendio 4.

Del total de 14 muestras que dieron como resultado positivo, 3 muestras que equivalen a un 21,4% resultaron positivas con su valor correspondiente en los expendios uno, cinco y seis; 2 muestras que equivalen a un 14,3% resultaron positivas con su valor correspondiente en los expendios dos y tres; y, 1 muestra que equivale a un 7,1% resultaron positivas con su valor respectivo en el expendio 4.

Tal como se detalla en la tabla 9 y se representa en el gráfico 4.

Tabla 9. Variable identificación del expendio y resultado de la muestra, Tabulación cruzada.

IDENTIFICACIÓN DE EXPENDIO	RESULTADO				Total	
	NEGATIVO		POSITIVO		Nº de muestras	%
	Nº de muestras	%	Nº de muestras	%		
EXPENDIO 1	9	15,5	3	21,4	12	16,7
EXPENDIO 2	10	17,2	2	14,3	12	16,7
EXPENDIO 3	10	17,2	2	14,3	12	16,7
EXPENDIO 4	11	19	1	7,1	12	16,7
EXPENDIO 5	9	15,5	3	21,4	12	16,7
EXPENDIO 6	9	15,5	3	21,4	12	16,7
Total	58	100	14	100	72	100

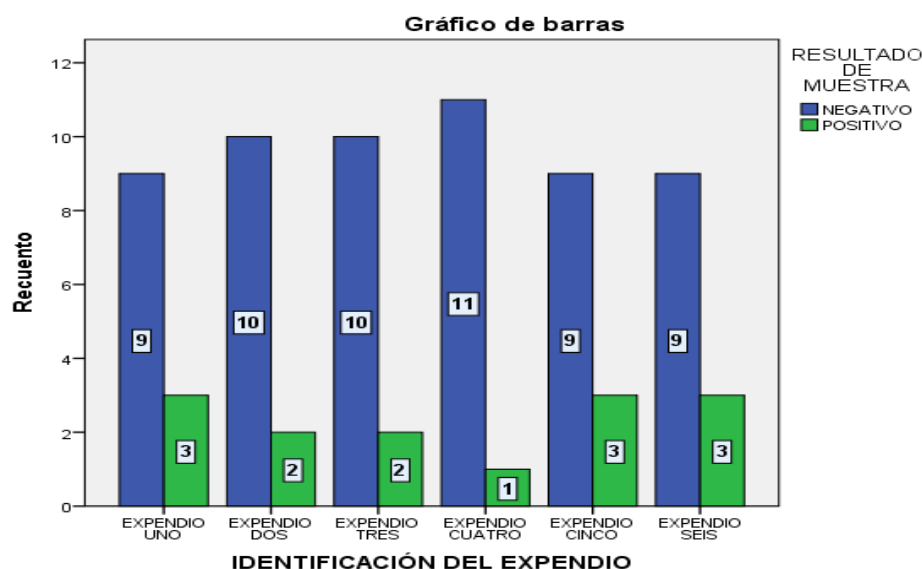


Gráfico 4. Relación entre la variable identificación del expendio y resultado de la muestra.

En la tabla 10 observamos en detalle el resultado de la prueba del chi-cuadrado de Pearson, de la cual se obtuvo un valor de 1,773^a y un valor de p de 0,880 (p mayor a 0.05), lo que indica que no existe diferencia significativa entre la identificación del expendio y el resultado de las muestras, es decir, no existe significación estadística entre las variables expuestas.

Tabla 10. Prueba de chi-cuadrado.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	1,773 ^a	5	,880
Razón de verosimilitud	1,936	5	,858
N de casos válidos	72		

a. 6 casillas (50,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 2,33.

Un estudio realizado en la Provincia de Chimborazo en 2015 (42), donde se utilizó como método de análisis AuroFlowBTS Combo Strip Test Kit, obtuvo como resultado en su muestreo valores negativos a la presencia de residuos de antibióticos en leche cruda obtenida de la planta del centro de acopio y de proveedores durante tres semanas consecutivas, coincidiendo con resultados reportados en una investigación realizada en la Provincia del Carchi en 2011 (20), por el Laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana de Cayambe que mediante la técnica Copan Milk Test (CMT), ensayo de inhibición microbiana de alto grado de sensibilidad que permite la detección de una amplia gama de agentes antimicrobianos, encontró resultados negativos a: ampicilina, oxacilina, trimetoprim, eritromicina y otros antibióticos.

Por el contrario, un estudio realizado en Albania en 2015, igualmente con el AuroFlowBTS Combo Strip Test Kit pero que solo detectaba Betalactámicos y Tetraciclinas, obtuvo como resultados 77 % de muestras negativas y un 23% de muestras positivas a la presencia de estos antibióticos, valores que se determinaron de un total de 180 muestras (9).

Por su parte investigaciones realizadas en la Provincia del Azuay, cantón Cuenca, realizadas en 2014 (21,28), determinaron valores de presencia de antibióticos: de un total de 32 muestras analizadas un 4,4% de las muestras de leche cruda presentaron residuos de antibióticos y de 88 muestras de leche cruda tomadas en las 22 fincas se obtuvieron 17 resultados positivos a residuos de antibióticos, lo que equivale al 19% del total de las muestras, se debe acotar que para dichas investigaciones se utilizó el kit Trisensor, que es un método de inmunoensayo enzimático para detección de residuos de antibióticos Betalactámicos, Tetraciclinas y Sulfonamidas en leche cruda parecido al AuroFlowBTS Combo Strip Test Kit, con la única diferencia de que el kit usado en nuestra investigación no necesita de la incubadora para las tiras reactivas.

4.2. Detección cualitativa de residuos de antibióticos en las muestras leche positivas.

De las 14 muestras de leche cruda positivas a residuos de antibióticos resultantes del muestreo con el Kit AuroFlow™ que detecta las familias de antibióticos Betalactámicos, Tetraciclinas y Sulfonamidas: 11 muestras son positivas únicamente a la familia de Betalactámicos, lo que equivale al 78,6%; 3 muestras son positivas a las familias de antibióticos Betalactámicos y Sulfonamidas, lo que equivale al 21,4%; y, por lo tanto 0 % de las muestras fueron positivas a la familia de antibióticos Tetraciclinas; tal como se detalla en la tabla 11 y se representa mediante el gráfico 5.

Tabla 11. Detalle de la detección cualitativa de residuos de antibióticos en las muestras leche positivas.

RESULTADO OBTENIDO	NÚMERO DE MUESTRAS	PORCENTAJE
Positivo únicamente a Betalactámicos	11	78,6 %
Positivo a Betalactámicos y Sulfonamidas	3	21,4 %
Positivo a Tetraciclinas	0	0 %
Total	14	100%

Gráfico 5. Distribución de los resultados positivos de acuerdo a las familias de antibióticos detectadas por el Kit AuroFlow™.

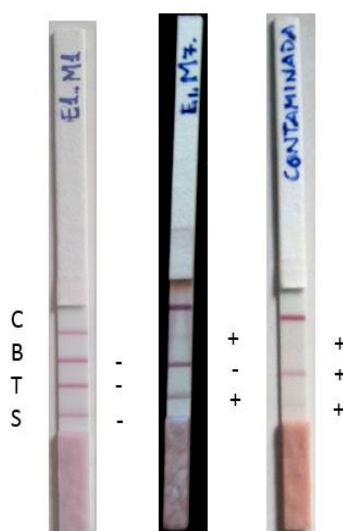
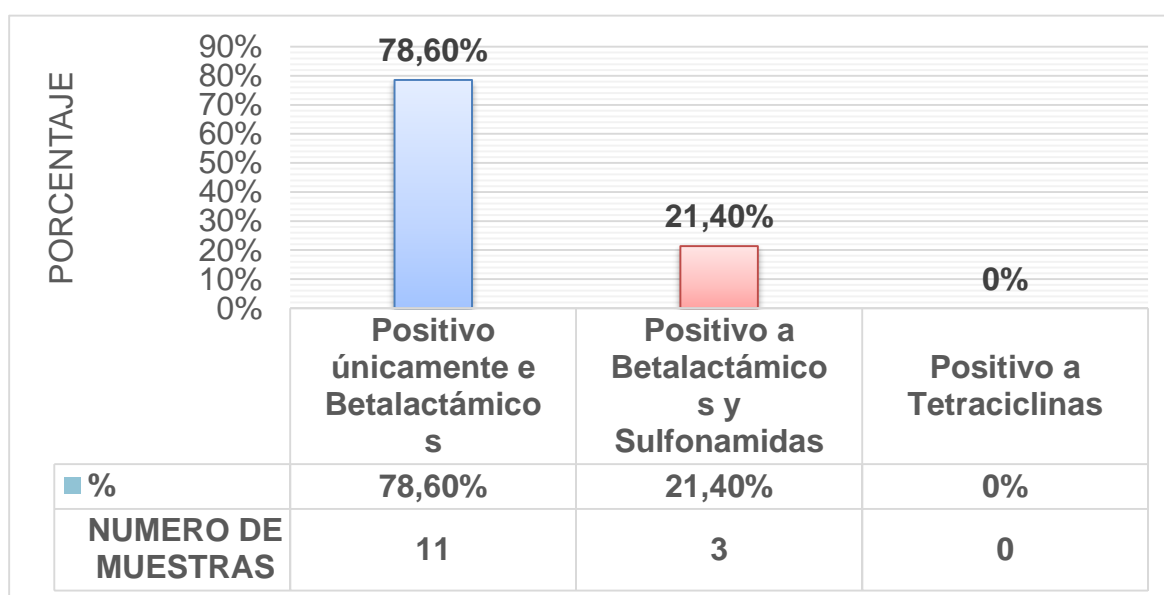


Gráfico 6. Resultado de muestreo: tira izquierda negativa, tira central positiva a dos tipos de antibióticos, tira derecha control contaminado.

La significación estadística entre estas variables, fue determinada mediante el análisis de Tablas Cruzadas y Prueba de Chi-cuadrado de Pearson, resultando que:

Del total de 14 muestras que dieron como resultado positivo, únicamente en el expendio 1, se presentaron 3 muestras con presencia de residuos de dos familias de antibióticos (Betalactámicos y Sulfonamidas); en los expendios 2 y 3 se presentaron respectivamente 2 muestras positivas únicamente a residuos de antibióticos Betalactámicos; en el expendio 4 solo 1 muestra fue positiva únicamente a residuos de antibióticos Betalactámicos; y, en los expendios 5 y 6 se presentaron respectivamente 2 muestras positivas únicamente a residuos de antibióticos Betalactámicos. Por su parte ninguna de las muestras de los expendios dieron positivo a tetraciclinas.

Tal como se detalla en la tabla 12 y se representa en el gráfico 7.

Tabla 12. Variable identificación del expendio y detección cualitativa de residuos de antibióticos en las muestras leche positivas, Tabulación cruzada.

IDENTIFICACIÓN DEL EXPENDIO	FAMILIA DE ANTIBIÓTICO PRESENTE EN LA MUESTRA DE LECHE			Total
	NINGUNA	BETALACTÁMICOS	DOS FAMILIAS (Betalactámicos y Sulfonamidas)	
EXPENDIO UNO	9	0	3	12
EXPENDIO DOS	10	2	0	12
EXPENDIO TRES	10	2	0	12
EXPENDIO CUATRO	11	1	0	12
EXPENDIO CINCO	9	3	0	12
EXPENDIO SEIS	9	3	0	12
Total	58	11	3	72

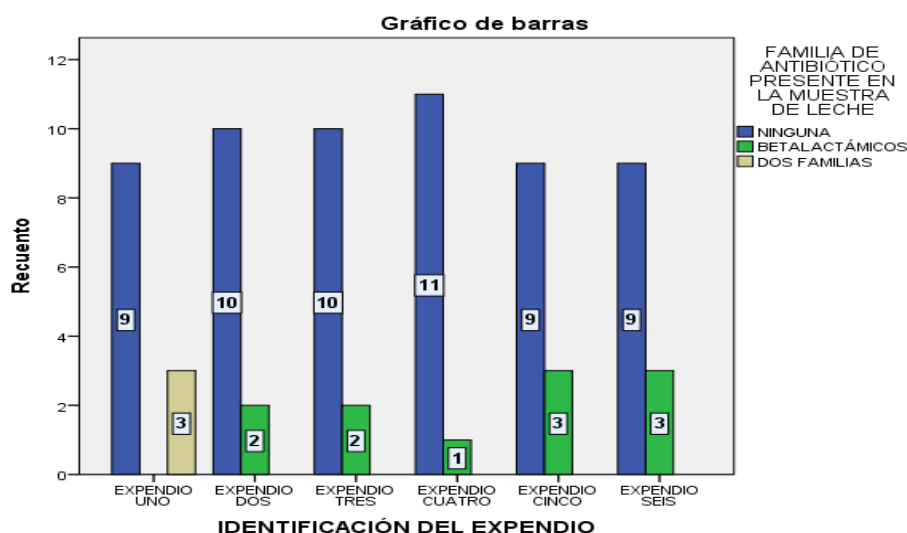


Gráfico 7. Relación entre la variable identificación del expendio y detección cualitativa de residuos de antibióticos en las muestras leche positivas.

En la tabla 13 observamos en detalle el resultado de la prueba del chi-cuadrado de Pearson, de la cual se obtuvo un valor de 19,072^a y un valor de p de 0,039 (p menor a 0.05), lo que indica que existe diferencia significativa entre la identificación del expendio y el detección cualitativa de residuos de antibióticos en las muestras leche positivas, es decir, existe significación estadística entre las variables expuestas.

Tabla 13. Prueba de chi-cuadrado.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	19,072 ^a	10	,039
Razón de verosimilitud	16,484	10	,087
N de casos válidos	72		

a. 12 casillas (66,7%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,50.

En un determinado estudio se han obtenido como muestras positivas solamente a residuos de betalactámicos 26/180 muestras (14%) lo que denominaron como débilmente positivas y positivas tanto a residuos de betalactámicos y tetraciclinas 16/180 muestras (9%) que en este caso fueron denominadas como fuertemente positivas (9), valores similares que indican en su mayoría muestras positivas a residuos de betalactámicos son las encontradas en un estudio realizado en Perú en 2013, donde un 45% (27/60) de las muestras resultaron positivas a residuos de este tipo de antibióticos (43).

En Ecuador, concretamente en la Provincia del Azuay en 2014, se encontraron residuos de betalactámicos en 11/17 muestras de leche cruda equivalente a un valor del 65% (28), por su parte un análisis sobre la situación del uso de medicamentos (antibióticos y antiparasitarios) en el cantón Cayambe de la Provincia de Pichincha realizado por Cholca (25), determinó que los sistemas de producción lechera han recurrido mayormente al uso de Betalactámicos (39%), Tetraciclinas (7%) y Sulfonamidas (1%), para el tratamiento de patologías en el ganado.

4.3. Forma de almacenamiento y transporte de la leche cruda.

Del total de 6 expendios comerciales de donde se obtuvieron las muestras de leche cruda: cuatro expendios comerciales almacenan su leche en tanques de aluminio que son transportados en camioneta, lo que equivale a un 66,7%; 1 expendio comercial almacena su leche en tanques de plástico y la transporta en motocicleta, lo que equivale a un 16,7% respectivamente; y, tan solo un expendio transporta su leche en camión termorefrigerado ThermoKing, lo que equivale a un 16,7%. Tal como se detalla en la tabla 14 y se representa en el gráfico 8.

Tabla 14. Detalle de forma de almacenamiento y transportación de la leche cruda.

RESULTADO OBTENIDO	IDENTIFICACIÓN DEL EXPENDIO	PORCENTAJE
Tanques de aluminio y camioneta	4	66,7 %
Tanques de plástico y motocicleta	1	16,7 %
Tanques de plástico y aluminio y camión termorefrigerado	1	16,7%
Total	6	100%

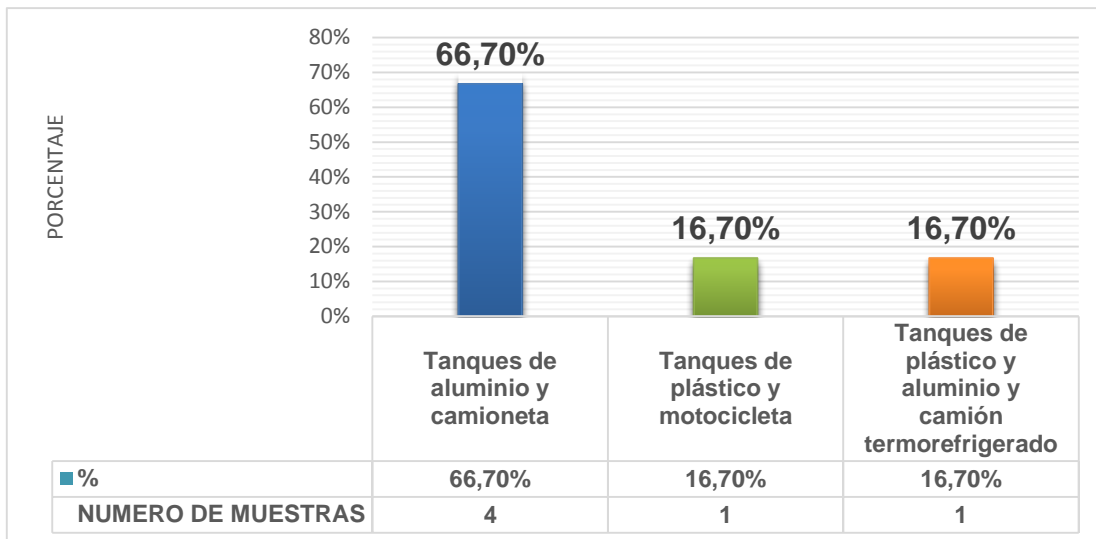


Gráfico 8. Forma de almacenamiento y transporte de la leche cruda.

4.4. Cantidad de leche diaria comercializada en los expendios durante el trabajo de campo.

Durante el tiempo en que se realizó la presente investigación se comercializaron un total de 10.230 Litros de leche cruda, de los cuales 1910 Litros de leche cruda (**Anexo 3**), de los que fueron tomados los 72 Litros de leche cruda unidad de muestra de este trabajo resultaron contaminados con residuos de antibióticos detectados por el AuroFlowBTS Combo Strip Test Kit.

El gráfico 9, representa la cantidad de litros de leche cruda comercializados y presumiblemente contaminados, donde también se evidencia que el expendio con mayor cantidad de leche cruda contaminada con residuos de antibióticos fue el expendio número 6.

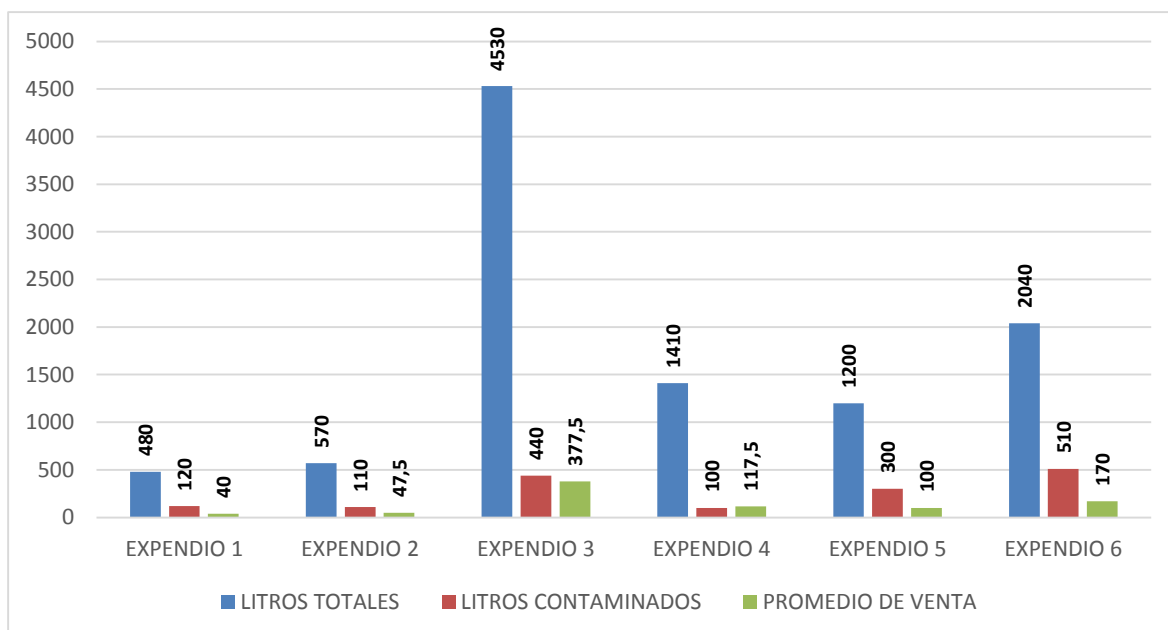


Gráfico 9. Representación de los litros de leche cruda comercializados y contaminados muestreados durante el trabajo de campo.

Se evidencia la presencia de residuos de antibióticos en la leche cruda muestreada, que se presentaron en un lapso de 4 días durante la etapa intermedia del trabajo de campo en la totalidad de los expendios, relacionado posiblemente a la aplicación de tratamiento

antibiótico para mastitis en las vacas en producción, hecho respaldado por una investigación realizada en Perú en 2013 (43), que empleo vacas que fueron tratadas para mastitis con las que se cumplió 3 días de periodo de retiro y el descarte de la leche producida durante su tratamiento, donde se encontró presencia de residuos de antibióticos betalactámicos en un 45% (27/60) de las muestras; es decir, muestras de leche con residuos de antibióticos después de tres días de terminado el tratamiento contra mastitis, que es el momento que la leche de estos animales ingresa al tanque de producción y es destinada al consumo humano o a la preparación de subproductos lácteos.

V. CONCLUSIONES.

Se detectó presencia de residuos de antibióticos, Betalactámicos y Sulfonamidas, en 14 de 72 (19,4%) de muestras de leche cruda comercializada en seis expendios del Cantón Naranjal, Provincia del Guayas de acuerdo a resultados obtenidos del empleo del método AuroFlowBTS Combo Strip Test Kit.

Los residuos de antibióticos betalactámicos fueron los que se presentaron con mayor frecuencia en las muestras de leche cruda positivas (78,6%).

La presencia de antibióticos en la leche cruda, detectada en un período de 5 días en la fase intermedia del período de investigación involucró a 14 litros de 1910 vendidos (18,67 %) lo que permite inferir que todos o la mayoría estarían contaminados con presencia de residuos de antibióticos en ese tiempo.

En su mayoría la leche cruda llega hacia los expendios comerciales almacenada en tanques de aluminio que son transportados en camioneta, aunque también se evidencia la utilización de tanques de plástico en ciertos expendios.

VI. RECOMENDACIONES.

Capacitación para la concientización de los propietarios de fincas lecheras sobre el respeto del tiempo de retiro de la comercialización y consumo de la leche producida por vacas que están siendo tratadas farmacológicamente ya sea para mastitis u otras patologías.

Programar, por parte de las instituciones responsables, AGROCALIDAD-MSP, capacitaciones a productores y consumidores sobre las consecuencias que tiene la ingestión de leche con residuos de antibióticos en la salud pública.

VII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Gaucheron F. Milk and dairy products: a unique micronutrient combination. *J Am Coll Nutr* [Internet]. 2011;30(5 Suppl 1):400S – 9S. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22081685>
2. Pereira P. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition* [Internet]. Elsevier; 2014;30(6):619–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2013.10.011>
3. Coudray B. The Contribution of Dairy Products to Micronutrient Intakes in France. *Jorunal Am Coll Nutr* [Internet]. 2011;30(sup5):410S – 414S. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07315724.2011.10719984?scroll=top&needAccess=true>
4. Prado J. Resíduos de Antimicrobianos em leite - Uma Revisão. *Segurança Aliment e Nutr* [Internet]. 2011;18(2):80–7. Available from: http://www.unicamp.br/nepa/publicacoes/san/2011/XVIII_2/docs/residuos-de-antimicrobianos-em-leite-uma-revisao.pdf
5. Maluf, Rochelli , Castro Renato, Braga A. Resíduos De Antibióticos Em Leite. *SaBios Rev Saúde e Biol.* 2012;7:30–44.
6. Vieira T, Rochedo M, Pinto M, MacHinski M, Pontes D. Detecção de resíduos de antibióticos em amostras de leite pasteurizado do Estado do Paraná, Brasil. *Semin Agrar.* 2012;33(2):791–6.
7. Trombete F, Dos Santos R, Souza A. Antibiotic residues in Brazilian milk: a review of studies published in recent years. *Rev Chil Nutr* [Internet]. 2014;41(2):191–7. Available from: <http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v41n2/art10.pdf>
8. Vásquez J, Olivera M. β -Lactam residues in raw milk and factors associated with its presentation. *Rev UDCA Actual Divulg Científica* [Internet]. 2012;15(1):157–65. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262012000100017&lng=en&nrm=iso&tlng=es
9. Fatmira B, Ram H, Xhilda A. Raw cow milk quality : Relationship between antibiotic residue and somatic cell count. *J Multidiscip Eng Sci Technol* [Internet]. 2015;2(12). Available from: <http://www.jmest.org/wp-content/uploads/JMESTN42351302.pdf>
10. Talero Y, Medina O, Rozo W. Técnicas analíticas contemporáneas para la identificación de residuos de sulfonamidas, quinolonas y cloranfenicol. *Univ Sci* [Internet]. 2014;19(1):11–28. Available from: <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/6618/5859>
11. Cubas F, Sammel M, Smith G, Galligan D, Levy M, Hennessy S. Antibiotic residues in milk from small dairy farms in rural Peru. *J Food Addit Contam Part A* [Internet]. 2014;31(6):1001–8. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19440049.2014.905877>
12. Darwish S, Eldaly E, El-abbasy M, Ikenaka Y, Nakayama S, Ishizuka M. Antibiotic residues in food the african scenario. *Jpn J Vet Res* [Internet]. 2013;(02):11. Available from:

http://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/bitstream/2115/52350/1/JJVR61-S_REVIEW_02.pdf

13. Xavier M. Presença de resíduos de antibióticos em leite e derivados. Segurança Aliment e Nutr [Internet]. 2013;20(19):297–308. Available from: <http://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8634605/2526>
14. Krewer CC, Lacerda I, Amanso ES, Cavalcante NB, Peixoto R, Pinheiro JW, et al. Etiology, antimicrobial susceptibility profile of Staphylococcus spp. and risk factors associated with bovine mastitis in the states of Bahia and pernambuco. Pesqui Vet Bras. 2013;33(5):601–6.
15. Pérez H, Robles A. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. Rev Med (Puebla) [Internet]. 2013;4(04):186–91. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2013/md133i.pdf>
16. Korb A, Kutzepa D, Teixeira D, Mendonça R. Riscos Para a Saúde Humana Do Uso De Antibióticos Na. 2011;4(1):21–36.
17. Piech T, Majer B, Kostruba A, Grzelak E, Choma I. Thin-layer chromatography—direct bioautography as an alternative method for screening of antibiotic residues in milk: A comparative study. J Liq Chromatogr Relat Technol [Internet]. 2016;39(5-6):292–7. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10826076.2016.1163468>
18. Nagel O, Molina P, Althaus R. Microbial system for identification of antibiotic residues in milk. J Food Drug Anal [Internet]. 2011;19(3):369–75. Available from: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:W07Lyu6Wg8gJ:www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?mID=148&id=11536&chk=aeddb509-2a14-4274-8259-b7d15da5f510+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec>
19. CODEX. Codex Alimentarius [Internet]. Segunda Ed. Leche y Productos Lacteos. Roma; 2011. 267 p. Available from: ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Milk/Milk_2011_ES.pdf
20. Villegas Mantuano ZS, Freire Carrera JP. Evaluación de la Calidad Físico Química y Microbiológica de la Leche Cruda que se expende en el Cantón Bolívar Provincia del Carchi. [Internet]. Universidad Técnica del Norte; 2011. Available from: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/386>
21. Castillo P, Ortega R. “Determinación de la alteración-adulteración de leche cruda mediante análisis físico- químicos en medios de transporte legalizados, provenientes de la Parroquia Tarqui, Cantón Cuenca.” [Internet]. Tesis. Universidad de Cuenca; 2014. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5022/1/Tesis.pdf>
22. Vizcarra R. Leche Cruda. Requisitos [Internet]. Quito; 2012. Available from: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0009.2008.pdf>
23. Moncada Jiménez A, Pelayo Consuegra BH. El proceso industrial de los productos lácteos [Internet]. Vol. I, El libro blanco de la leche y los productos lácteos. 2011. 52-65 p. Available from: <http://www.aproval.cl/manejador/resources/libroblancomail5.pdf>

24. Parra M, Peláez L, Londoño J, Pérez N, Rengifo G. Los residuos de medicamentos en la leche: Problemática y estrategias para su control [Internet]. S.A. EP, editor. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Neiva; 2003. 80 p. Available from: http://agronet.gov.co/www/docs_si2/20061024154510_control_estrategico_residuos_medicamentos_en_la_leche.pdf
25. Cholca S. Análisis de la situación del uso de medicamentos (antibióticos y antiparasitarios) en las unidades productivas de los centros de acopio y enfriamiento de leche Sto. Domingo N° 1 y Puliza. [Internet]. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito; 2011. Available from: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/3727/6/UPS-YT00130.pdf>
26. Plumb D. Manual de Farmacología Veterinaria. Sexta Edic. Buenos Aires: Editorial Inter-Médica; 2010. 1222 p.
27. Aalipour F, Mirlohi M, Jalali M, Azadbakht L. Dietary exposure to tetracycline residues through milk consumption in Iran. J Environ Heal Sci Eng [Internet]. Journal of Environmental Health Science and Engineering; 2015;13:80. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4655496&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
28. Ortiz M. “Detección de la presencia de Aflatoxina M1 y Antibióticos en leche cruda de las fincas de mayor producción del cantón Biblián”. [Internet]. Universidad del Azuay; 2014. Available from: <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/3341/1/10109.pdf>
29. Hosnia A, Manal M, AwadAbdel H. Tetracycline Residues in Intensive Broiler Farms in Upper Egypt: Hazards and Risks. J World’s Poult Res [Internet]. 2015;5(3):48–58. Available from: [http://jwpr.science-line.com/attachments/article/33/J_World’s_Poult_Res_5\(3\)_48-58,_2015.pdf](http://jwpr.science-line.com/attachments/article/33/J_World’s_Poult_Res_5(3)_48-58,_2015.pdf)
30. Fajardo-Zapata ÁL, Méndez-Casallas FJ, Molina LH. Residuos de fármacos anabolizantes en carnes destinadas al consumo humano. Univ Sci [Internet]. 2011;16(1):77–91. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/unsc/v16n1/v16n1a07.pdf>
31. Barrera AM, Ortez EM. Determinación de residuos de antibióticos β -lactámicos y Tetraciclinas en leche cruda de cinco ganaderías ubicadas en el Municipio de San Luis Talpa y en leche pasteurizada. Determinación de residuos de antibióticos β -lactámicos y Tetraciclinas en le [Internet]. Universidad de El Salvador; 2012. Available from: <http://ri.ues.edu.sv/2198/1/13101313.pdf>
32. Alimentarius C. Glosario de términos y definiciones (para Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos) [Internet]. 2016. p. 4. Available from: http://www.codexalimentarius.org/download/standards/348/CXA_005s.pdf
33. Alimentarius C del C. Límites máximos de residuos (LMR) y recomendaciones sobre la gestión de riesgos (RGR) para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. [Internet]. 2015. p. 40. Available from: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/vetdrugs/es/>
34. Corp BS. AuroFlow™ BTS Combo Strip Test Kit Manual [Internet]. 2013. p. 8.

Available from: <http://www.nfcgida.com/urunler/BTSCComboStrip.pdf>

35. Heshmati A. Impact of Cooking Procedures on Antibacterial Drug Residues in Foods : A Review. *J Food Qual Hazards Control* [Internet]. 2015;2:33–7. Available from: <http://oaji.net/articles/2015/1169-1426484503.pdf>
36. Tian L, Khalil S, Bayen S. Effect of thermal treatments on the degradation of antibiotic residues in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2016;0(ja):00. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2016.1164119>
37. Abril A, Pillco V. Calidad Físicoquímica de la leche cruda que ingresa a la ciudad de Cuenca, para su comercialización. [Internet]. Universidad de Cuenca; 2013. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4825/1/TESIS.pdf>
38. Ayuso M. China y el Peligro de las “ Super Bacterias ”. La “ Amenaza Mundial ” que oculta la industria alimentaria [Internet]. 2013. p. 1–3. Available from: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/54-antibioticos_bacterias.pdf
39. Jabbar A, Ur Rehman S. Microbiological Evaluation of Antibiotic Residues in Meat , Milk and Eggs. *J Microbiol Biotechnol Food Sci* [Internet]. 2013;2(5):2349–54. Available from: <http://search.proquest.com/openview/b64ec660baadb31fd10873576431170f/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1966353>
40. Mesgari M, Babaei H, Ansarin M, Nourdadgar A o sadat, Nemati M. Simultaneous determination of tetracyclines residues in bovine milk samples by solid phase extraction and HPLC-FL method. *Adv Pharm Bull* [Internet]. 2011;1(1):34–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3850003/pdf/apb-1-34.pdf>
41. INEC, MAG S. Tabla 6. Número de UPAs y cabezas de ganado por especies, razas, según Cantón [Internet]. 2010. p. 10. Available from: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-bbd/>
42. Valle T. “Evaluación de la calidad de la leche cruda e implementación de un Manual de Calidad en el centro de acopio: Asociación El Panecillo, Tungurahua” [Internet]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4621/1/56T00600 UDCTFC.pdf>
43. Paúl Salas Z, Sonia Calle E, Néstor Falcón T, Chris Pinto J, Juan Espinoza B. Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos mediante un ensayo inmunoenzimático en leche de vacas tratadas contra mastitis. *Rev Investig Vet del Peru* [Internet]. 2013;24(2):252–5. Available from: <http://www.redalyc.org/pdf/3718/371838875017.pdf>

VIII. ANEXOS.

ANEXO 1. Base material y desarrollo de la técnica para determinación de antibióticos en leche.



Gráfico 6.1.1. Materiales.



Gráfico 6.1.2. Rotulación de muestra de leche y tubo de ensayo



Gráfico 6.1.3. Colocación de la muestra en jarra medidora, homogenización de la muestra y llenado de tubo de ensayo.



Gráfico 6.1.4. Toma del pocillo de reacción, toma de muestra de 200 ul con micropipeta, colocación y homogenización de la muestra en el pocillo.

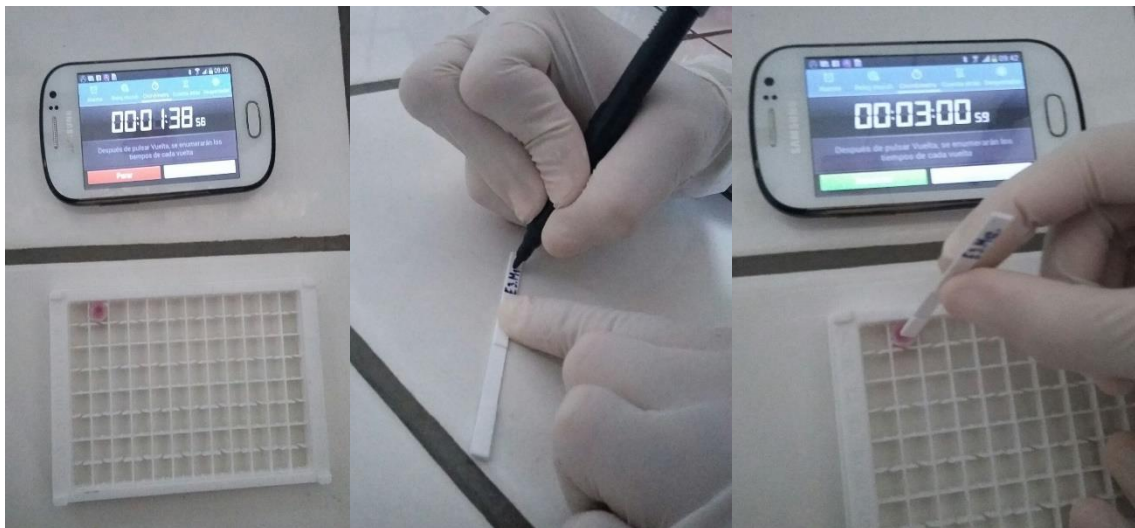


Gráfico 6.1.5. Incubación de la muestra en el pocillo, rotulación de la tira reactiva, colocación de la tira en el pocillo.

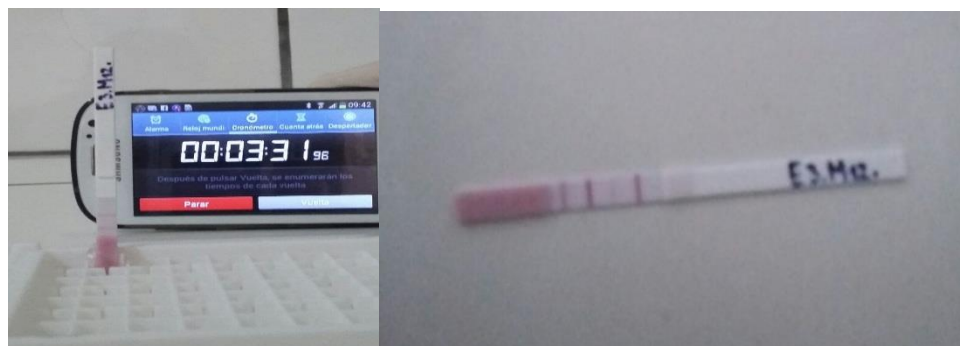


Gráfico 6.1.6. Incubación de tira reactiva y lectura de resultado.

ANEXO 2. Hojas de registro de trabajo de campo



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
AUTOR: NOEMÍ ELIZABETH AROCA RIVERA



DATOS DEL EXPENDIO

NÚMERO DEL EXPENDIO: EXPENDIO UNO

LITROS DE LECHE COMERCIALIZADA: SIEMPRE 40 LITROS DIARIOS

LUGAR DE PROCEDENCIA DE LA LECHE: SITIO CIEN FAMILIAS – CANTÓN BALAO

FORMA DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LA LECHE: TANQUE DE ALUMINIO – CAMIONETA

REGISTRO DE TOMA DE MUESTRAS

EXPENDIO Nº 1

Número de Muestra	Fecha de toma de muestra	Resultado del kit		Familia de antibiótico presente en la muestra		
		POSITIVO	NEGATIVO	Betalactámicos	Tetraciclinas	Sulfonamidas
1	28/06/2016		x	---	---	---
2	30/06/2016		x	---	---	---
3	02/07/2016		x	---	---	---
4	04/07/2016		x	---	---	---
5	06/07/2016		x	---	---	---
6	08/07/2016	x		+	---	+
7	10/07/2016	x		+	---	+
8	12/07/2016	x		+	---	+
9	14/07/2016		x	---	---	---
10	16/07/2016		x	---	---	---
11	18/07/2016		x	---	---	---
12	20/07/2016		x	---	---	---



AUTOR: NOEMÍ ELIZABETH AROCA RIVERA

REGISTRO DE TIRAS REACTIVAS DEL KIT AUROFLOW

FECHA	EXPENDIO 1	EXPENDIO 2	EXPENDIO 3	EXPENDIO 4	EXPENDIO 5	EXPENDIO 6	CONTROL CONTAMINADO
28 DE JUNIO DE 2016							

ANEXO 3. Tabla de total de leche comercializada durante los días de muestreo.

FECHA DE TOMA DE MUESTRA	IDENTIFICACIÓN DEL EXPENDIO					
	EXPENDIO	EXPENDIO	EXPENDIO	EXPENDIO	EXPENDIO	EXPENDIO
	1	2	3	4	5	6
28/JUNIO/2016	40 Litros	40 Litros	370 Litros	100 Litros	100 Litros	170 Litros
30/JUNIO/2016	40 Litros	40 Litros	370 Litros	100 Litros	100 Litros	170 Litros
2/JULIO/2016	40 Litros	70 Litros	400 Litros	170 Litros	100 Litros	170 Litros
4/JULIO/2016	40 Litros	40 Litros	370 Litros	100 Litros	100 Litros	170 Litros
6/JULIO/2016	40 Litros	40 Litros	370 Litros	100 Litros	100 Litros	170 Litros
8/JULIO/2016	40 Litros	40 Litros	370 Litros	100 Litros	100 Litros	170 Litros
10/JULIO/2016	40 Litros	70 Litros	400 Litros	170 Litros	100 Litros	170 Litros
12/JULIO/2016	40 Litros	40 Litros	370 Litros	100 Litros	100 Litros	170 Litros
14/JULIO/2016	40 Litros	40 Litros	370 Litros	100 Litros	100 Litros	170 Litros
16/JULIO/2016	40 Litros	70 Litros	400 Litros	170 Litros	100 Litros	170 Litros
18/JULIO/2016	40 Litros	40 Litros	370 Litros	100 Litros	100 Litros	170 Litros
20/JULIO/2016	40 Litros	40 Litros	370 Litros	100 Litros	100 Litros	170 Litros
TOTAL	480 Litros	570 Litros	4530 Litros	1410 Litros	1200 Litros	2040 Litros
LITROS CONTAMINADOS	120 Litros	110 Litros	440 Litros	100 Litros	300 Litros	510 Litros
LITROS EN PROMEDIO	40 Litros	47,5 Litros	377,5 Litros	117,50 Litros	100 Litros	170 Litros