



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y**  
**ZOOTECNIA**



**“DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN  
LECHE FRESCA COMERCIALIZADA EN LA CIUDAD DE  
SICUANI – CUSCO”**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**SANDRO PUMA APAZA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2020**



## DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo a mi madre, por su apoyo incondicional, e incansable sin ella hubiera sido poco posible haber logrado culminar mis estudios. Tu perseverancia y consejo durante todos los días a lo largo de mi vida me protege y me lleva por las sendas del éxito. Por eso te dedico el presente trabajo por tu paciencia y amor madre prodigiosa, te amo mamita.

A mi padre que desde el cielo siempre estuvo vigilante por mi bienestar y buena salud, te extraño papito.

A mis hermanas, por su comprensión y apoyo en los momentos más difíciles que he experimentado a lo largo de mi formación profesional.

A mi hija **NAYELI ZAMIRA**, quien fue mi mayor inspiración para convertirme en profesional, te amo profundamente.

A la madre de mi hija, por su apoyo incansable e incondicional y por su comprensión, en su debido momento.

**Sandro Puma Apaza**



## AGRADECIMIENTOS

A nuestro divino creador, por ser mi guía espiritual en este largo camino, gracias a él superé los momentos difíciles y me levanté para culminar con éxito.

A la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, a la gloriosa Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, que me facilitó desarrollarme académicamente y tener una educación de superioridad.

A todos los valiosos docentes que me inculcaron sus conocimientos y sabidurías, me ayudaron en desarrollar mis conocimientos.

A toda mi familia por el apoyo incondicional, por siempre impulsarme a ser mejor y lograr con éxito mi formación profesional.

Mi más sincero agradecimiento al Dr. VICTOR MELITON ZANABRIA HUISA, por dirigirme el presente trabajo de investigación.

Al Dr. JULIO MALAGA APAZ, por ayudarme incansablemente en la ejecución de este trabajo.

**Sandro Puma Apaza**



# ÍNDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

**ÍNDICE GENERAL**

**INDICE DE TABLAS**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

**RESUMEN ..... 9**

**ABSTRACT..... 10**

## **CAPITULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

**1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION ..... 12**

**1.1.1. OBJETIVO GENERAL..... 12**

**1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 13**

## **CAPITULO II**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

**2.1. MARCO TEORICO CONCEPTUAL..... 14**

**2.2. MARCO TEORICO REFERENCIAL..... 31**

## **CAPITULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

**3.1. UBICACIÓN..... 36**

**3.2. MATERIAL DE ESTUDIO..... 36**

**3.3. MATERIALES DE LABORATORIO ..... 37**

**3.4. EQUIPOS ..... 37**



<b>3.5. CULTIVO .....</b>	<b>37</b>
<b>3.6. METODOLOGÍA.....</b>	<b>38</b>
<b>3.7. ANÁLISIS DE DATOS.....</b>	<b>41</b>

#### **CAPITULO IV**

##### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

<b>4.1. RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE FRESCA COMERCIALIZADA EN LOS MERCADOS DE SICUANI.....</b>	<b>42</b>
<b>4.2. INFLUENCIA DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS EN LA ACIDEZ DE LA LECHE FRESCA .....</b>	<b>46</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>50</b>
<b>VII. REFERENCIAS.....</b>	<b>51</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>56</b>

**Área: Salud Pública.**

**Tema: Residuos de antibióticos en leche fresca.**

**FECHA DE SUSTENTACION: 17 de enero de 2020**



## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Clasificación de las penicilinas .....	19
<b>Tabla 2.</b>	Antibióticos aprobados por la medicina veterinaria .....	22
<b>Tabla 3.</b>	Periodo de retiro de los antibióticos en vacas lactantes .....	23
<b>Tabla 4.</b>	Límites máximos permisibles en la leche cruda .....	24
<b>Tabla 5.</b>	Nivel de detección con Delvotest® T en leche bovina cruda mezclada. ....	28
<b>Tabla 6.</b>	Porcentaje de leche fresca comercializada con residuos de antibióticos en el distrito de Sicuani, según meses. ....	43
<b>Tabla 7.</b>	Proporción de leche fresca comercializada con residuos de antibióticos en el distrito de Sicuani, según mercados. ....	44
<b>Tabla 8.</b>	Acidez de la leche fresca.....	46



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de los antibióticos Betalactámicos.....	21
<b>Figura 2.</b> Análisis de control LI y LS para la acidez de la leche entera .....	48
<b>Figura 3.</b> Presencia de residuos de antibióticos por meses.....	56
<b>Figura 4.</b> Presencia de residuos de antibióticos por lugares.....	57
<b>Figura 6.</b> Transporte de la muestra.....	59
<b>Figura 7.</b> Kit delvotest .....	59
<b>Figura 8.</b> Sembrado de la muestra .....	60
<b>Figura 9.</b> Procesamiento de la muestra foto instrucciones Delvotest®.....	61
<b>Figura 10.</b> Lectura de positivos y negativos.....	61



## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

FAO	: Food and Agriculture Organization (Organización para la Alimentación y la Agricultura)
OMS	: Organización Mundial de la Salud
USDA	: United States Department of Agriculture (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos).
IM	: Intramuscular
VO	: Vía oral.
SC	: Subcutáneo
ng/mL	: Nanogramos por mililitro.
µg/mL	: Microgramos por mililitro.
HACCP	: Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control.
UFC/mL	: Unidades Formadoras de Colonias por mililitro.
UI/kg	: Unidades Internacionales por kilogramo.
JECFA	: Comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios.
LS	: Límite superior
LI	: Límite inferior
°D	: Grados dorning





## RESUMEN

Para la ejecución del presente trabajo de investigación se recolectaron muestras de leche fresca en los diferentes lugares de expendio como: mercados, tiendas, y otros (productores), de la ciudad de Sicuani – Cusco, entre los meses junio y julio del 2019. Las muestras se analizaron en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - UNA PUNO. Los objetivos de la investigación fueron: a) Determinar la presencia de residuos de antibióticos en leche fresca comercializada en la ciudad de Sicuani – cusco mediante el método de la prueba comercial de difusión estándar Delvotest® T y b) Determinar la acidez como criterio de calidad físico químico, en la leche fresca, utilizando para tal efecto el método cualitativo del cultivo de la cepa *Stearothermophilus* de la prueba difusión estándar Delvotest® T, así mismo se determinó la acidez de la leche mediante la prueba denominada acidez titulable. Los datos se analizaron mediante la prueba estadística de Ji cuadrada. Los resultados alcanzados fueron de 12.0 % de positivos a residuos de antibióticos. En los meses de junio y julio fue de 10 y 14 % de positivos a residuos de antibióticos, respectivamente ( $P \geq 0.05$ ). Mientras en los mercados “La Bombonera” resultaron positivos a residuos de antibióticos el 18.10 % y para los otros (productores) mostraron menor porcentaje. Para la acidez de la leche los resultados fueron un máximo de 0.17 con un mínimo de 0.13 y un promedio  $0.16245 \pm 0.0238$  °D. Por tanto, se concluye indicando que los expendios de leche fresca no cumplen las condiciones del Reglamento Sanitario de Alimentos, en donde indica que la leche cruda que se expende no deberá contener sustancias conservadoras (antisépticos, antibióticos, plaguicidas u otros).

**Palabras Clave:** Antibiótico, leche fresca, mercados, delvotest, acidez.



## ABSTRACT

For the execution of this research work, samples of fresh milk were collected in the different places of sale such as: markets, stores, and others (producers), in the city of Sicuani - Cusco, between the months of June and July 2019. The samples were analyzed in the Biochemical Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics - UNA PUNO. The objectives of the research were: a) To determine the presence of antibiotic residues in fresh milk marketed in the city of Sicuani - Cusco using the Delvotest® T standard diffusion commercial test method and b) To determine acidity as a quality criterion chemical physicist, in fresh milk, using for this purpose the qualitative method of the cultivation of the *Stearotherophilus* strain of the Delvotest® T standard diffusion test, likewise, the acidity of the milk was determined by means of the test called titratable acidity. Data were analyzed using the chi-square statistical test. The results achieved were 12.0% positive for antibiotic residues. In the months of June and July it was 10 and 14% positive for antibiotic residues, respectively ( $P \geq 0.05$ ). While in the markets, the candy box was positive for antibiotic residues 18.10% and for the others (producers) they showed a lower percentage. For milk acidity, the results were a maximum of 0.17 with a minimum of 0.13 and an average of  $0.16245 \pm 0.0238$  °D. Therefore, it is concluded that fresh milk outlets do not meet the conditions of the Sanitary Food Regulation, where it indicates that the raw milk that is sold should not contain preservative substances (antiseptics, antibiotics, pesticides or others).

**Keywords:** Antibiotic, fresh milk, markets, delvotest, acidity.



# CAPITULO I

## INTRODUCCIÓN

La leche constituye una vía natural de eliminación para los antibióticos y sus metabolitos. Por otro lado, la administración oral, intramuscular o intravenosa tiene menos importancia, desde el punto de vista de higiene de leche, que la aplicación por vía intramamaria. Los antibióticos de aplicación intramamaria son de fácil aplicación y generalmente más económicos, por lo que su uso es preferido en explotaciones lecheras (Magariños, 2000).

Los antibióticos se usan en las actividades ganaderas de tres formas básicas: Terapéutica, profiláctica y como promotores del crecimiento. En este contexto, los antibióticos se usan para el tratamiento de la mastitis de las vacas lecheras desde hace muchos años (Shahani y Whalen, 2001).

Algunos antibióticos como la penicilina, estreptomina, tetraciclina y eritromicina, son muy usados en el tratamiento de enfermedades infecciosas en los animales domésticos, también se utilizan para mejora el rendimiento productivo de estos, por lo que, en años recientes, se han convertido en una preocupación para los investigadores por su uso indiscriminado, haciéndose necesaria su detección e identificación en los productos y subproductos de origen animal destinados al consumo humano (Gutiérrez, 2001).

En la explotación del ganado de leche se afronta muchos problemas con los que el productor tiene que lidiar, los animales siempre están propensos a padecer alguna enfermedad durante su vida reproductiva. Los fármacos como son los antibióticos, se han convertido en un arma para afrontar y en el tratamiento de estas enfermedades. Después



de administrar un medicamento a un animal, tiene lugar un proceso metabólico que favorece su eliminación, en términos generales, la mayor parte del producto y de sus metabolitos se excretan por la orina y las heces, sin embargo, también pueden estar presente estos productos en la leche o en la carne (Parra, 2003).

Una leche de buena calidad debe reunir las siguientes características: adecuada composición (contenido de proteína, grasa, sólidos totales, minerales y vitaminas), no contener un número excesivo de microorganismos (<50000 UFC/mL), estar libre de sustancias extrañas y residuos químicos e inhibidores (antibióticos, pesticidas y otros), ausencia de cuerpos extraños y de agentes patógenos (Cabrera, 2003).

Los residuos de antibióticos en leche son perjudiciales tanto para la salud pública como para algunos procesos de la industria láctica. Al ingerir alimentos contaminados con residuos de antibióticos representan un peligro para la salud, porque éstos son capaces de producir una toxicidad de tipo crónica, causar reacciones alérgicas de distintas magnitudes, efectos carcinogénicos, pueden estimularse bacterias antibiótico resistentes y en consecuencia el desarrollo de microorganismos patógenos, además puede causar la reducción de la síntesis de vitaminas; por otro lado, pueden presentarse irritaciones digestivas, entre otras (Brunton, 2007).

## **1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION**

### **1.1.1. Objetivo general**

- Determinar la presencia de residuos de antibióticos en leche fresca comercializada en la ciudad de Sicuani – Cusco



### 1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar la presencia de residuos de antibióticos en leche fresca comercializada en la ciudad de Sicuani – Cusco mediante el método de la prueba comercial de difusión estándar Delvotest® T.
- Determinar la acidez como criterio de calidad físico químico, en la leche fresca comercializada en mercados tiendas y otros (productores) de la ciudad de Sicuani.



## CAPITULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. MARCO TEORICO CONCEPTUAL

##### 2.1.1. Leche

La leche es el producto de la deyección de las glándulas mamarias de todos los mamíferos, obtenido por uno o varios ordeños en el caso de los bovinos, esto sin la adición de alguna sustancia. La leche es una emulsión de materia grasa en una solución acuosa, que contiene numerosos elementos, unos en disolución y otros en estado coloidal; por lo tanto, la leche tiene la propiedad de ser una mezcla física y química, compuesta por agua, grasa, proteínas, azúcares, minerales, vitaminas, enzimas y algunos materiales celulares de la glándula mamaria (Veisseyre, 1980).

##### 2.1.1.1. Leche cruda entera

Es el producto integro no alterado ni adulterado del ordeño higiénico, regular y completo de vacas sanas y bien alimentadas, sin calostro y exento de color, olor, sabor y consistencia anormales y que no ha sido sometido a procesamiento o tratamiento alguno (NTP 202.001, 2003).

##### 2.1.2. La leche como alimento de calidad para el consumo humano

La leche por su gran valor nutricional es de excelente calidad para el consumo humano es un producto que aporta un contenido equilibrado de aminoácidos, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales, y de muy poco contenido de gérmenes patogénicos de células somáticas, con una ausencia casi nula de cuerpos extraños y con sabor y olor normales. (Parra, 2003).



La FAO recomienda el consumo de leche, por lo que es beneficiosa durante la niñez y la adolescencia, y también para las personas de la tercera edad y mujeres gestantes. Una ración de 200 ml de leche fresca de vaca aporta a un niño un 21% de los requerimientos proteicos y un 8 % de calorías y micronutrientes esenciales. Además, provee al organismo de muchos otros nutrientes necesarios para su correcto funcionamiento como la vitamina A, D, B12 y otras vitaminas del complejo B (FAO, 2004).

### **2.1.3. Calidad de leche**

La calidad es determinada por las características físico-químicas y bacteriológicas que determinan la composición de los productos. Una leche de buena calidad debe reunir las siguientes características: adecuada composición (contenidos de proteína, grasa, sólidos totales, minerales y vitaminas), no contener un número excesivo de microorganismos (<50.000 UFC/ml), estar libre de libre de sustancias extrañas (calostro, sedimentos) y de residuos químicos e inhibidores (antibióticos, pesticidas y otros), ausencia de cuerpos extraños y de agentes patógenos (brucelosis, tuberculosis, paratuberculosis y salmonella, entre otros), y poseer adecuadas características organolépticas (sabor y olor normales) (Cabrera, 2003).

### **2.1.4. Factores que desmejoran su calidad.**

La leche es un producto que tiende a contaminarse con mucha facilidad, debido a su constitución química y a su elevada proporción de agua; es por ello en una dicente higiene durante el proceso de ordeño y el inadecuado cuidado en el transporte y almacenamiento, al igual que las múltiples enfermedades que afectan las glándulas mamarias, desmejoran la calidad de la leche y la pueden convertir en un producto nocivo para la salud (Parra, 2003).



Además, el uso de fármacos, contribuye a la contaminación del medio ambiente, hace que se puedan almacenar residuos de compuestos químicos o sus metabolitos en tejidos u órganos de los animales, al ser consumidos estos productos por la población humana, pueden convertirse en un problema de salud pública. Por ello es necesario adoptar medidas de control (Parra, 2003).

### **2.1.5. Importancia de la buena calidad.**

Es importante contribuir al mejoramiento de la calidad de la leche, porque es un alimento de alto valor nutritivo, y es esencial en la dieta del ser humano en sus primeros meses de vida; además, con la apertura de los mercados, las únicas restricciones para el libre comercio de la leche están basadas en su calidad composicional y bacteriológica, así como en la ausencia de residuos considerados como tóxicos y nocivos para el consumidor. Por lo tanto, se deben desarrollar programas para el uso racional de medicamentos y sustancias químicas, para el control de enfermedades y para procesos de limpieza y desinfección en las fincas (Cotrino, 2001).

### **2.1.6. Propiedades Físicoquímicas de la Leche**

Cada propiedad físico-química de la leche fresca, está definido por el aporte de sus componentes. Entonces, estas propiedades varían con la composición (Jenness y Patton, 1976). Algunas de las características físicas dependen del total de los componentes: densidad, tensión superficial y calor específico. Otros dependen de las sustancias disueltas: índice de refracción y punto de congelación. Otras de iones: pH, conductividad; y el potencial redox depende de los electrones (Alais, 1985).

En la industria lechera, la medición de las propiedades físicas de la leche y productos lácteos son realizadas para asegurar información necesaria, con el fin de poder diseñar equipos lecheros (conductividad térmica y viscosidad), también para determinar





la concentración de un componente o grupo de componentes (agua añadida) o, para apreciar la extensión de un cambio químico o físico (acidez titulable para seguir la acción bacteriana o viscosidad para apreciar agregación de micelas proteicas o glóbulos grasos). (Jeness, 1974).

#### **2.1.7. Inhibidores en leche cruda.**

Los inhibidores de la leche cruda se definen a toda sustancia química o biológica que, al ser suministrado o consumido por el animal, se elimina o permanece como metabolito en la leche, con efectos perjudiciales para el que lo consume (Llanos, 2002).

Estas sustancias no sólo incluyen a los antibióticos utilizados en el tratamiento de enfermedades infecciosas, también incluyen los desinfectantes y detergentes usados en los procesos de limpieza y desinfección así como los pesticidas utilizados en la agricultura. Los residuos antibióticos son los inhibidores artificiales más comunes presentes en la leche de vaca, con un impacto negativo sobre la salud humana, procesamiento y calidad de la leche (Llanos, 2002).

#### **2.1.8. Los antibióticos**

Se define como antibiótico, a un grupo de sustancias químicas orgánicas, las cuales son producidas, por ciertos microorganismos durante su crecimiento y que en cantidades muy pequeñas tienen un efecto nocivo o tóxico para otros microorganismos (Pérez, 2010).

Los antibióticos son sustancias producidas por microorganismos o plantas superiores de composición química muy diversa. Tienen la propiedad de inhibir los procesos metabólicos de las bacterias, bien sea destruyéndolas o inhibiendo su reproducción (Parra, 2003).



En los animales domésticos es común el uso de antibióticos como la penicilina, estreptomicina, tetraciclina y eritromicina pero en años recientes su uso indiscriminado ha contribuido a generar serios problemas en el tratamiento de procesos infecciosos en el ser humano y las especies domésticas, haciéndose necesaria su detección e identificación en los productos y subproductos de origen animal destinados al consumo humano (Camacho, 2010).

#### **2.1.8.1. Betalactámicos**

Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos inhiben la síntesis de la pared bacteriana que está constituido por peptidoglucano. El lugar de acción de estos antibióticos es la muramil pentapéptido carboxipeptidasa, enzima indispensable para el entrecruzamiento de la pared celular bacteriana. Su consumo puede producir reacciones adversas como: erupciones maculopapulares, urticariana, fiebre, broncoespasmo, vasculitis, enfermedad del suero, dermatitis exfoliativa, síndrome de Stevens-Johnson y anafilaxia en el ser humano (Duarte, 2016).

#### **2.1.8.2. Clasificación de antibióticos $\beta$ -lactámicos**

De acuerdo a Duarte (2016); los antibióticos se clasifican en cuatro grupos diferentes en la medicina veterinaria los más usados son estos dos grupos de antibióticos.

##### **a) Penicilinas**

Una subclase de antibióticos más generosos pertenecientes al grupo de los denominados beta-lactámicos desde el punto de vista de su eficacia y mínima toxicidad es el de las penicilinas (antibióticos que contienen una estructura química llamada anillo beta-lactámico) (Sumano y Ocampo, 2006).



A pesar de su acierto e intuición, quizá sir Alexander Fleming no advirtió integralmente el amplio campo de oportunidades terapéuticas que brindarían sus compuestos originales descubiertos en los años de 1928 y 1929. Diez años más tarde, purificaron Florey, Chain y Abraham en Oxford esto permitió utilizar la penicilina en forma clínica. Aunque esta sustancia inicialmente se obtuvo del cultivo de *Penicillium notatum* en superficie, en la actualidad los cultivos en tanques de *Penicillium chrysogenum* irradiado hacen de la extracción de la penicilina un proceso fácil y productivo (Sumano y Ocampo, 2006).

**Tabla 1. Clasificación de las penicilinas**

<b>Naturales</b>	<b>Resistentes a penicilinasas</b>	<b>Amino penicilinas</b>	<b>Ticarcilina carbenicilina</b>
Penicilina G sodica	Cloxacilina	Ampicilina	Ticarcilina
Procainica y Benzatinica	Dicloxacilina	Amoxicilina	Carbenicilina
---	Nafcilina	Hetacilina	Ácido
Fenoximetilpenicilina			Clavulamico, Sulbactam
			Bacampicilina o Azolicilina

Fuente Sumano y Ocampo, 2006

#### **b) Carbapenem**

Son una clase de antibióticos beta-lactámicos de amplio espectro de actividad bactericida y son altamente resistentes a las betalactamasas. Esta clase de antibióticos fueron descubiertos originalmente del microorganismo *Streptomycescattleya*, el cual, produce su propio antibiótico llamado tienamicina (Guerrero, 2009).



Las características que diferencian a los carbapenémicos de las penicilinas y cefalosporinas, es que en su anillo presenta un átomo de carbono en la posición 1, en sustitución del átomo de azufre que comúnmente tienen la mayoría de las penicilinas y cefalosporinas, de ahí se deriva su nombre. Además, su espectro de acción frente a bacterias es el más amplio de todos los antibióticos betalactámicos, los cuales incluyen bacterias Gram (+) y Gram (-) aerobias y anaerobias, pero no actúan sobre bacterias que se desarrollan intracelularmente como *Chlamydia* (Guerrero, 2009).

#### c) Monobactáms

Betalactámico natural obtenido del *Chromobacterium violaceum*; es diferente a los otros antimicrobianos betalactámicos por poseer un núcleo monocíclico. Es bactericida en contra de organismos aerobios gramnegativos, que sirvió posteriormente para la obtención sintética del primer antibiótico producido en clínica, Aztreonam, el que actúa exclusivamente frente a Gram (-) (Guerrero, 2009).

#### d) Cefalosporinas

Son un grupo de antibióticos pertenecientes al grupo de los betalactámicos, es decir, poseen un anillo  $\beta$ -lactámicos fusionado con un anillo dihidrotiazínico constituyendo el núcleo cefem del que derivan todas las cefalosporinas, a diferencia de las penicilinas que también poseen el anillo  $\beta$ -lactámico pero fusionado a un anillo tiazolidínico de 5 miembros (Mella, 2001).

Sobre la base de esta comparación, se puede entender que el núcleo cefem presenta ventajas con relación al núcleo penam. En primer lugar, el núcleo de las cefalosporinas es intrínsecamente resistente a muchas penicilinasas; así, bacterias que producen estas enzimas permanecen susceptibles a las cefalosporinas; esta propiedad explica el amplio espectro de actividad de las cefalosporinas, particularmente sobre *Staphylococcus* spp (Mella, 2001).

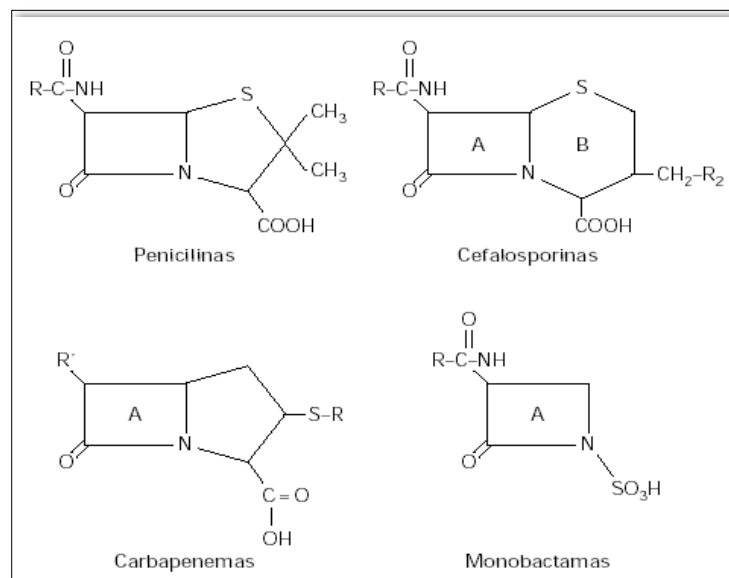


Figura 1. Estructura de los antibióticos Betalactámicos

#### e) **Tetraciclinas**

Las tetraciclinas tienen como punto de ataque los ribosomas bacterianos. Ejercen su efecto sobre un número grande de bacterias Gram positivas y negativas, aerobias y anaerobias, micoplasmas, rickettsias, clamidias y espiroquetas (Vicente, 2010).

### 2.1.9. Antibióticos aprobados en la medicina veterinaria

Los antibióticos aprobados para uso en medicina veterinaria pertenecen a alguna de las familias químicas establecidas. De acuerdo con el reporte del centro para el control y prevención de enfermedades infecciosas, en USA han sido aprobados 17 antibióticos para uso en veterinaria incluyendo familias de las penicilinas, eritromicina y tetraciclinas que son importantes para el tratamiento de infecciones en humanos (Hidalgo, 2008).

**Tabla 2. Antibióticos aprobados por la medicina veterinaria**

Gentamicina	Tilmicocina	Salinomicina
Furazona	Tetraciclina	Sulfametacina
Eritromicina	Estreptomina	Sulfametacina
Dihidroestreptomina	Penicilina	Sulfaetoxipiridazina
Clortetraciclina	Oxitetraciclina	Sulfadimetoxina
Ceftiofur	Neomicina	Sulfaclopiridazina
Bacitracina	Monencina	Sulfabromometazina
Ampicilina	Lacorbid	
Amoxicilina	Tilosina	

Fuente: Hidalgo (2008).

### 2.1.10. Periodo de retiro de los antibióticos en vacas lactantes

El tiempo de retiro de los antibióticos de uso veterinario que son utilizados con mayor frecuencia en la explotación ganadera, sobre todo en vacas lactantes que su leche es utilizada para el consumo humano, se muestra en la tabla 3.



**Tabla 3. Periodo de retiro de los antibióticos en vacas lactantes**

<b>Principio activo</b>	<b>Tiempo de retiro de la leche</b>
Amoxicilinatrihidrato	96 horas
Ampicilinatrihidrato	48 horas
Cefquinoma	168horas
Ceftiofur	12 horas
Ciprofloxacino	No usar
Enrofloxacina	No usar
Eritromicina	72 horas
Espiramicina	168 horas
Florfenicol300 mg/ml	No usar
Gentamicina	72 horas
Kanamicina	72 horas
Oxitetraciclinahidrocloruro	72 horas
Oxitetraciclina L.A 200 mg/ml	96 horas
Oxitetraciclina L.A 300 mg/ml	144 horas
Penicilina G procainica	48 horas
Penicilina G procainica estreptomicina	168 horas
PG procaina+sulfato de estreptomicina 20/20	36 horas

Fuente: Ruiz (2000).

### **2.1.11. Límites máximos permisibles de residuos de antibióticos en la leche fresca.**

Es la manifestación máxima de metabolitos resultantes de fármacos de uso veterinario (expresada en mg/kg o ug/kg sobre la base del peso fresco) que recomienda la comisión del CODEX Alimentarius que se permita legalmente o se reconozca como

admisible dentro de un alimento destinado al consumo humano o en la superficie del mismo. (Dirección regional de salud ambiental, 2012).

**Tabla 4. Límites máximos permisibles en la leche cruda**

<b>TIPO DE ANTIBIOTICO</b>	<b>LMR Codex Alimentarius</b>	<b>LMR UE 2010</b>
<b>PENICILINA</b>	Ppb	Ppb
Bencilpenicilina	4	4
Ampicilina	4	4
Amoxicilina	4	30
<b>TETRACICLINAS</b>	Ppb	Ppb
Oxitetraciclina	100	100
Clortetraciclina	100	100

Dirección regional de salud ambiental, 2012

#### **2.1.12. Residuos de Antibióticos que afectan indirectamente**

La resistencia bacteriana podría llegar a considerarse también como un problema ecológico, ya que cepas que son resistentes a algunos antibióticos no afectan solamente a las personas que están siendo tratadas, sino a otros individuos que comparten el ambiente con éstas, además muchas bacterias resistentes pueden pasar de animales a humanos y viceversa, lo cual hace difícil el tratamiento de infecciones en ambos, tomando en cuenta que todas las bacterias de un organismo son afectadas cuando se implementa un tratamiento a base de antibióticos (Reyes, 2006).

#### **2.1.13. Contaminación de leche por antibióticos**

El uso excesivo e inapropiado de los antibióticos, ha logrado el aumento de microorganismos resistentes, los cuales han adquirido la capacidad para resistir los efectos de determinado fármaco ante el cual eran susceptibles, debido a esto, es





importante que se apliquen buenas prácticas agrícolas, veterinarias, de alimentación animal, así como de higiene en las explotaciones lecheras, para evitar la presencia de residuos de fármacos en la leche (Reyes, 2006).

#### **2.1.14. Importancia de residuos de antibióticos en la salud pública**

Al consumir leche con residuos de antibióticos pueden provocar efectos adversos como erupciones macupapulares, urticaria, fiebre, broncoespasmo, vasculitis, dermatitis exfoliativa y anafilaxia en distintos grados, pudiendo causar graves reacciones en personas hipersensibles tan solo con ingerir 40 UI de algún tipo de penicilina. Al ingerir leche contaminada con residuos de tetraciclinas pueden provocarse reacciones adversas como dolor epigástrico y abdominal, náuseas, vómitos, diarreas; en personas hipersensibles al antibiótico se puede presentar fotosensibilidad por exposición cutánea al sol, en lactantes prematuros o niños en estado de desarrollo óseo y dentario acelerado, puede causar alteraciones y disminución del crecimiento óseo, por sus propiedades quelantes de calcio y otros cationes, formando compuestos estables que interfieren en la osificación y dentición normal, sin embargo, esta situación no parece ser un fenómeno frecuente y puede ser reversible si la exposición fue durante poco tiempo (Brunton, 2007).

#### **2.1.15. Importancia de residuos de antibióticos para la salud animal**

Es necesario entender que cuando se habla de salud animal no se puede excluir el peligro que implica que los animales consuman leche con residuos de antibióticos en concentraciones mayores a las permitidas por los organismos reguladores, ya que si esta leche, se descarta y es proporcionada a animales que estén lactando, existe un peligro muy alto de poder contraer resistencia bacteriana a patógenos comunes tanto en humanos como en animales, ya que al estar consumiendo dosis subterapéuticas de forma continua, disminuye la eficacia de los fármacos administrados en dosis terapéuticas al presentarse



una necesidad real. Es por ello que no es adecuado suministrar a lactantes, terneros especialmente, con leche de alto contenido de antibióticos (Zurich y San Martín, 2004).

#### **2.1.16. Importancia de residuos de antibióticos en la industria láctea**

La industria láctea está directamente relacionada a la pérdida de la calidad de la leche, afectando mayormente a los productos fermentados, fabricación y maduración del queso; los residuos de antibiótico por tanto, provocan demora en la acidificación y coagulación, siendo ésta última deficiente; además hay disminución de la retención de agua, se puede dar el desarrollo de microorganismos indeseables y alteración de las características normales del producto, tales como cuerpo débil, textura blanda, sabor amargo y consistencia arenosa, además, reduce la producción normal de acidez y aroma durante la fabricación de la mantequilla y el yogurt (Magariños, 2000).

Ya que en muchos casos la leche con residuos de antibióticos es mezclada con el resto de la leche libre de los mismos, un ejemplo del grado de afectación que puede representar el tratamiento con penicilina para el procesamiento industrial refiere que un tratamiento vía intramamaria de una vaca con 200 mg de penicilina G es capaz de contaminar la leche de 8.000 vacas (Prado, 2002).

#### **2.1.17. Normativas para los residuos de antibióticos en leche.**

De acuerdo con los lineamientos del Codex Alimentarius, es indispensable que todas las personas que intervienen en la autorización, elaboración, venta y suministro, prescripción y aplicación de antibióticos en el ganado productor de leche actúen dentro del marco legal y responsablemente, a fin de limitar la diseminación de microorganismos resistentes entre los animales y la presencia de residuos de éstos medicamentos en la leche, para proteger la salud pública, y cumplir con la obligación ética y la necesidad económica de conservar la salud de los animales (Reyes, 2006).



La normativa indica que los niveles máximos de residuos de Bencilpenicilinas en leche de vaca son de 4  $\mu\text{g/L}$ , que permite un consumo diario de 30  $\mu\text{g}$  de penicilina por persona por día, por lo cual los residuos de dicho fármaco deberían mantenerse por debajo de esta manifestación. Por otro lado, los límites máximos de residuos de Clortetraciclina, Oxitetraciclina y Tetraciclina es de 100  $\mu\text{g/L}$ , permitiendo un consumo diario de 0 – 30  $\mu\text{g/kg}$  de peso corporal, de un residuo medicamentoso o químico constituye una guía para conocer la cantidad máxima que puede ingerirse diariamente con el alimento sin riesgo alguno para el consumidor (CODEX Alimentarius, 2012).

#### **2.1.18. Métodos de detección de residuos de antibióticos**

En la actualidad existen diferentes métodos que se utilizan para detectar residuos de antibiótico en leche fresca, sin embargo esto depende de la implementación y el presupuesto con el que cuente ya sea la empresa privada o el estado; el método microbiológico detecta la presencia o ausencia de un determinado fármaco y puede incluso cuantificar la concentración del mismo, debido a esto es usado habitualmente por su costo (Roca, 2008).

Hoy en día existen innumerables test rápidos o Snap Test, tales como el BRT, BR-Test, Copan, Delvotest o Eclipse que son algunos de los métodos más utilizados todos ellos emplean el *Geobacillus steraothermophilus var. Calidolactis*, antes conocido como *Bacillus stearothermophilus*, como microorganismo de prueba, estos son utilizados generalmente para conocer la presencia o ausencia de determinado fármaco y basándose en el cambio de color para luego compararlo una escala (Roca, 2008).

##### **2.1.18.1. La prueba estándar Delvotest® T**

La utilización del Test cualitativo o Delvotest® T es una prueba de difusión estándar para el rastreo de los residuos de sustancias antibacterianas (antibióticos y



sulfonamidas). Delvotest® T (*Bacillus stearothermophilus* var. *Calidolactis*), es un test rápido, que su característica es de inhibir el crecimiento y la producción de ácido del microorganismo *Bacillus stearothermophilus* variedad *Calidolactis*. Con la adición de leche fresca y seguidamente la incubación, el microorganismo germina y produce ácido carbónico (Camacho, 2010).

Los fármacos enlistados son una selección de la muestra del espectro de detección. El nivel de detección se refiere a la concentración más baja en la cual un fármaco es todavía detectada por la prueba, al tiempo control o al tiempo de lectura fijo de 3 horas (Alvarado, 2011).

**Tabla 5.** Nivel de detección con Delvotest® T en leche bovina cruda mezclada.

<b>Droga</b>	<b>Nivel de detección a tiempo de control (ppb o ng/ml)</b>	<b>Nivel de detección Lectura a 3 horas (ppb o ng/ml)</b>
$\beta$ -lactams		
penicilina	1 – 2	2 - 3
Ampicilina	4	6 - 7
Amoxicilina	2 – 3	3 - 5
Ceftiofur	25 – 50	50 - 100
Cefapirina	4 – 6	6 - 8
Cloxacilina	20	20 - 30

Fuente: (Alvarado, 2011).

El test consiste en ampollitas que contienen al medio sólido agar sembrado de un número estandarizado de las esporas de *Bacillus stearothermophilus* var. *Calidolactis*, junto con nutrientes necesarios para el crecimiento y un antifolate trimethoprim. El medio es coloreado en purpura por el indicador de pH purpura de bromo cresol (Alvarado, 2011).



Cuando se realiza el análisis de las de leche que están libres de sustancias inhibidoras de las bacterias o aquellas que estén en concentraciones por debajo de niveles especificados, se produce la germinación y crecimiento de la bacteria, seguidamente esto conduce a un cambio de color del indicador de púrpura a amarillo. Sin embargo, cuando la muestra de leche contiene sustancias antibacterianas por encima de la sensibilidad de la prueba, el crecimiento bacteriano es inhibido y como resultado el color del agar permanece púrpura. Esta técnica detecta al antimicrobiano por debajo del límite de tolerancia fijada por FDA, USDA. Los niveles de detección para cloxacilina, neomicina y cefalosporinas son 20, 100 - 200 y 25 - 50 partes por billon (ppb), respectivamente (Alvarado, 2011).

#### **2.1.19. Causas más comunes de aparición de residuos de antibióticos.**

El mal manejo de la crianza de ganado es un factor preponderante para la presencia de inhibidores en leche esto es un descuido del propietario o responsable de los animales. Entre las principales causas de residuos de antibióticos, están las siguientes:

- No obedecer el periodo de retiro de los fármacos.
- Ordeñar vacas que hayan sido tratadas con antibióticos de larga acción.
- Utilizar drogas que no están aprobados.
- No contar con registros sanitarios.
- Sobredosificación de medicamentos.
- Aplicar fármacos sin la receta del Médico Veterinario.
- Administrar medicamentos por vías que no están recomendadas, por los laboratorios.
- Presencia de residuos como desinfectantes en el equipo de ordeño.
- Mezclar las leches buenas con las contaminadas.



- Descartar la leche, solamente del cuarto mamario tratado con antibiótico (Botero, 1997).

### **2.1.20. Acidez de la leche**

La acidez de la leche consiste en que existe una modificación de la lactosa por acción microbiana en ácido láctico, esto se puede expresar en grados Dornic ( $^{\circ}$ D) o en grados soxhlet-Henkel (S.H.), lo cual es determinado mediante varias pruebas: ebullición, alcohol y titulación. La leche fresca, en estado normal, no contiene ácido láctico (Alais, 1985).

La acidez de valoración global de la leche expresada en porcentaje de ácido láctico, puede variar entre el 0,10 y 0,30 %. La mayor parte de las leches tienen una acidez del 0,14 al 0,17%. Los componentes naturales de la leche que contribuyen a la acidez son los fosfatos 0,09%, y las caseínas 0,05 – 0,08%. (Viera, 2013).

#### **2.1.20.1. Prueba de acidez titulable**

Para poder analizar la acidez de la leche es prudente contar con un equipo de titulación que consta de una bureta, un sifón y un vaso de fondo blanco, también es necesario el uso de un álcali (NaOH, 0,1N) y un indicador de solución alcohólica (fenolftaleína, al 1%), en el vaso de fondo blanco se le agrega 9 ml de leche y luego 2-3 gotas de indicador. Una vez obtenida la mezcla se procede a titular con NaOH hasta conseguir el primer tono “rojo grosella” persistente por medio minuto. Luego se anota el gasto del álcali (cada décima de centímetro cubico de gasto de solución de NaOH 0,1 N equivale a 0,01 g de ácido láctico por 100 ml de leche (viera, 2013).



## 2.2. MARCO TEORICO REFERENCIAL

### 2.2.1. Antecedentes

Determinación cualitativa de residuos de antibióticos betalactámicos en leche fresca bovina, en la microcuenca del distrito de taraco – puno. Para la ejecución del presente estudio se colectaron muestras de leche bovina en las comunidades de mayor producción de leche bovina del distrito de Taraco, con la finalidad de determinar la presencia de residuos de antibióticos en leche fresca bovina a través de la técnica de Difusión Estándar Delvotest T. Se trabajó con un total de 100 muestras durante los meses de febrero y abril del 2018, en todo el estudio se encontró que el 20% de muestras son positivos a residuos de antibióticos betalactámicos. En época de lluvia, mes de febrero, se colectó 50 muestras, de los cuales 13 fueron positivos, representando el 26%. En época de seca, mes de abril, se colectaron también 50 muestras, de los cuales 7 fueron positivos, representando el 14% (Huaranca, 2018).

Presencia de residuos de antibióticos y su relación con las propiedades fisicoquímicas de la leche fresca de los comités del programa del vaso de leche de los distritos de san jerónimo y Andahuaylas. En la investigación se encontró que el 10.8% de los comités del distrito de San Jerónimo reportaron positivo a tetraciclina, y para los comités reportaron que el 9.4% y 3.1% fueron positivo para tetraciclinas y  $\beta$ -lactámicos respectivamente, como también la densidad, acidez, pH y solidos totales no muestra correlación ( $p\text{-value} > 0.05$ ) con los antibioticos  $\beta$ -lactamicos y tetraciclinas, pero para las muestras de leche que reportaron positivo para la prueba de alcohol muestran una débil correlación ( $r_s = 0.38$ ) con la presencia de antibióticos. Por lado, el análisis PCA indica que la acidez y densidad son las principales variables que determinarían la presencia de antibióticos (Obregón, 2017).



Evaluación de la Residualidad en Leche de una Infusión Antibiótica Intrauterina sobre la base de Cefalexina, Neomicina, Cloxacilina y Vitamina A (Metricef 3®) en vacas lecheras del distrito de Pachacamac, departamento de Lima. Se seleccionaron dos grupos de trabajo: Grupo A (Tratamiento): 10 vacas lecheras con metritis. Grupo B (Control): 10 vacas lecheras sin tratamiento, todas en un promedio de peso de 600 Kg. Se trabajó con el Kit Devotest T Se concluye que la residualidad en leche de una Infusión Antibiótica Intrauterina sobre la base de Cefalexina, Neomicina, Cloxacilina y Vitamina A (Metricef 3®) en vacas lecheras en lactación es nula; dado a que, los resultados como negativos por el método utilizado en el presente trabajo se interpretan como valores de antibióticos por debajo de los niveles de detección y estos a su vez son valores considerados menores al LMR (Alvarado, 2010).

Frecuencia de  $\beta$ -lactámicos y tetraciclinas en leche fresca en la cuenca de Arequipa. En el que obtiene una frecuencia de 88.8% para  $\beta$ -lactámicos y de 61.6% para tetraciclinas de 616 muestras analizadas, habiendo diferencias altamente significativas entre ambos grupos de antibióticos ( $p < 0.01$ ). Con este estudio demuestra que los antibióticos que pertenecen al grupo de los  $\beta$ -lactámicos son una importante fuente de contaminación de leche fresca en la cuenca lechera de Arequipa (Ortiz, 2007).

Determinación de residuos de antibióticos en la leche fresca que consume la población de Cajamarca. Análisis 216 muestras de leche fresca, entre diciembre 1990 a febrero 1991, los resultados que obtiene es lo siguiente. En mercados, de 50 vendedores, se obtuvieron 150 muestras de leche, que resultaron 31 muestras positivas a la presencia de antibióticos, lo que significa que el 20.67%. En tiendas y fundos, de 22 vendedores se trabajaron 66 muestras de los cuales 14 fueron positivas lo que hace un 21.21% de positividad a la presencia de antibióticos en la leche fresca. Los resultados en promedio





(20.83%) indican un alto nivel de contaminación con antibióticos de la leche fresca que consume la población de Cajamarca, (Llanos, 1991).

Detección de residuos de antibióticos  $\beta$ -lactámicos y tetraciclinas comercializada en el Callao. Analizo 40 muestras de leche cruda que eran comercializados en los mercados del distrito del Callao, entre enero y marzo del 2009, para este trabajo empleo el método presuntivo para antibióticos  $\beta$ -lactámicos y tetraciclinas de IDEX Laboratories, el cual cumple con los límites de sensibilidad de residuos de la FDA. Encontró 40% de muestras fueron positivo a residuos de  $\beta$ -lactámicos en leche cruda. No encontró resultados positivos al analizar tetraciclinas. Los resultados sugieren que se deberían establecer políticas de legislación, regulación y capacitación, y que la NTP 202.001.2003 debería ser revisada (Guerrero, 2009).

Residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en la región de Tierra Caliente, de Guerrero, México. Analizo 129 muestras con el Kit comercial Delvotest® SP para detectar residuos de antibióticos, de las cuales, del total de muestras analizadas, el 66.67% procedían de productores quienes la comercializan directamente al público, mientras que el restante 33.33% fue comercializada por revendedores o boteros. La leche comercializada por los productores, mostró mayor presencia de residuos de antibióticos (11.63%), mientras que la comercializada por los revendedores presentó un 6.97% de prevalencia. En la región de Tierra Caliente de Guerrero se expende leche cruda con residuos de antibióticos, poniéndose en riesgo la salud de la población (Camacho, 2010).

Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos mediante un ensayo inmunoenzimático en leche de vacas tratadas contra mastitis. Se colectaron muestras de leche de 60 vacas, se analizaron mediante la prueba inmunoenzimática SNAP. El 45.0% (27/60) resultó positivo a residuos de antibióticos. Asimismo, el 50.0% (14/28) de los



animales tratados por vía intramuscular y 40.6% (13/32) por vía intramamaria fueron positivos; y 46.7% (7/15), 57.1% (12/21) y 33.3% (8/24) de las vacas de baja, media y alta producción, respectivamente, fue positiva a la prueba; aunque sin que hubiera una asociación estadística entre el tipo de antibiótico, vía de administración, y nivel de producción con la presencia de residuos de antibióticos (Salas, 2017).

Evaluación de la presencia de residuos de antibióticos y quimioterapéuticos en leche en Jalisco, México. Análisis de 264 muestras de 10 centros de acopio y el total (12 marcas) de leche pasteurizada comercializada en el estado de Jalisco. Análisis de las muestras mediante la prueba del yogurt, los resultados fueron 26 resultaron positivas a la presencia de antimicrobianos, que equivale al 9.8 % de contaminación total. Para la leche pasteurizada resultaron 20 muestras positivas (13.8%), mientras que en leche cruda el porcentaje fue inferior (5%). La mayor frecuencia de contaminación se presentó en el mes de agosto con 27.3%. Se puede concluir que existe un problema de contaminación con antimicrobianos en la leche consumida en el estado de Jalisco, que viola la Norma vigente (Noa, 2009).

Detección de Antibióticos en Leches: Un Problema de Salud Pública. Se realizaron tres muestreos con intervalo de dos meses, en una empresa acopiadora de leche en la ciudad de Montería, además, se analizaron muestras de leche pasteurizadas de seis marcas comerciales. Para determinar la acidez de la leche utilizo el método de alcoholimetría, para detectar presencia de antisépticos H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a través de KI al 35% y V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> al 1% en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluido. Seguidamente analizo la presencia de antibióticos mediante el test (BioX Diagnostic® Jemelle, Belgique). Los resultados fueron negativos a la acidez por alcoholimetría, se evidenció la presencia de antibióticos en 111 muestras (25 %) de leches crudas; para leche pasteurizada no se detectaron antibióticos. Conclusiones El 25 % de trazas de antibióticos en leches demuestra la inexistencia de un



control sanitario, así como evidencia el uso indiscriminado de antibióticos en la industria pecuaria y un riesgo para la salud pública (Máttar, 2009).

Determinación de residuos de antibióticos  $\beta$ -lactámicos y Tetraciclinas en leche cruda de cinco ganaderías ubicadas en el Municipio de San Luis Talpa y en leche pasteurizada. Para el análisis de las tetraciclinas mostró que, de las 25 muestras de leche cruda, solamente tres estaban por debajo de los valores establecidos ( $100\mu\text{g/L}$ ); mientras que las leches procesadas mostraban valores muy superiores que iban desde  $449\mu\text{g/L}$  hasta  $8649\mu\text{g/L}$ . Por otra parte, en el análisis de  $\beta$ -lactámicos las 25 muestras de leche cruda superaron el valor establecido ( $4\mu\text{g/L}$ ) y las muestras de leche pasteurizada registraron valores muchos mayores que iban desde  $546\mu\text{g/L}$  hasta  $1740\mu\text{g/L}$ . Se concluye que tanto las leches crudas, como pasteurizadas presentaron niveles superiores a los permitidos por la norma, lo cual representa un riesgo a la salud de los consumidores debido a los múltiples efectos nocivos que éstos fármacos pueden producir al ser ingeridos en pequeñas dosis constantemente, tales como resistencia de cepas bacterianas, procesos alérgicos y alteraciones digestivas, entre otras (Barreda, 2012).



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. UBICACIÓN

El trabajo de investigación se realizó a nivel de puestos de expendio de los mercados, tiendas y otros(productores) del distrito de Sicuani, la misma que se encuentra ubicado en la sierra sur del Perú de la provincia de Canchis, departamento del Cusco, a una altitud de 3550 msnm, a 14° 17' 01" S, 71° 13' 26" O.

Las 100 muestras de leche fresca cruda, proveniente de vendedores de leche de los mercados que expenden, fueron analizadas en el laboratorio de bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNA-PUNO, mediante la prueba de Difusión Estándar Delvotest.

#### 3.2. MATERIAL DE ESTUDIO

Para determinar la cantidad de muestras a analizar, se realizó mediante la fórmula establecida por Wayne, (1999).

$$n = \frac{Z^2 (p)(q)}{E^2}$$

Donde:

n = tamaño de muestra (90)

Z = nivel de confianza (90%)

E = error (10%)

p = probabilidad (50).

$$n = \frac{1.90^2(0.50)(0.50)}{0.1^2} = 90$$



El tamaño de muestra resultó 90, el cual se ha redondeado a 100 muestras; ya que el total de las pruebas del kit son 100.

### 3.3. MATERIALES DE LABORATORIO

- Tubos de ensayo
- Micro pipetas automáticas
- Cinta de embalaje
- Pinzas plásticas
- Fichas de trabajo
- Pipeta graduada
- Pipeta volumétrica de 20 ml
- Matraz Erlenmeyer
- Bureta de 50 ml graduada en 0.1 ml

### 3.4. EQUIPOS

- Estufa
- Refrigerador
- Baño maría
- Cronometro

### 3.5. CULTIVO

- Ampollas con *Bacillus stearothermophilus* (kit Desvotest® T)
- Hidróxido de sodio 0.1 N.
- Fenolftaleína
- Leche fresca



### 3.6. METODOLOGÍA

La recolección de muestras de leche fresca en los mercados, tiendas se realizó en tubos de ensayo limpios y estériles identificándose a cada uno con un código. Las muestras se transportaron en condiciones de refrigeración a 4°C, al laboratorio de bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNA - Puno, para realizar el análisis correspondiente.

Los análisis se realizaron entre los meses de junio y julio del 2019 se recolectaron muestras cada 15 días.

#### 3.6.1. Análisis de residuos de antibiótico

##### 3.6.1.1. Descripción de la prueba

El test es un método de análisis de residuos de antibióticos con carácter de amplio espectro que facilita verificar la presencia de diferentes sustancias antimicrobianas en leche por su alta sensibilidad de detección. Sin embargo, aparte de las sensibilidades especificadas para la Penicilina G y Sulfadiazina, también pueden ser detectados un número sustancial de otros antibióticos y sustancias inhibitorias a cerca de los niveles tales como aquellos definidos por el Nivel Máximo de Residuo (MRL).

- Es la prueba más sensible.
- Se basa en el cultivo de una bacteria que acidifica la leche.
- *Stearotermophilus calidolactie*.
- Es un micro cultivo resistente a alta temperatura y de rápido desarrollo.
- Soporta temperatura de 64° C +- 2°
- Tiempo de incubación 3Hs. +- 15 min.
- Sensibilidad a todos los antibióticos.



### 3.6.1.2. Indicaciones del test

- Consiste en la acidificación de la leche por parte del *Bacillus stearothermophilus* (*var. Calidolactis*).
- El micro cultivo está en el pequeño vial que contiene una sustancia que vira el color según el pH a que sea sometido.
- Si el sustrato (muestra de leche) contiene sustancias inhibitorias el cultivo muere y no acidifica la leche.
- En este caso no hay cambio de color y la prueba la muestra permanece de color purpura esto se interpreta como positivo a antibiótico en leche.
- Si el sustrato no contiene antibiótico la bacteria *Bacillus stearothermophilus* (*var. Calidolactis*) continúa su metabolismo acidificando la lactosa presente en la muestra, este ácido producida vira el indicador del cultivo a color amarillo, en este caso indica negativo a la presencia de antibiótico.

**Prueba de Difusión Estándar Delvotest. Según el fabricante, el procedimiento es como sigue:**

- a) Precalentar el incubador. La temperatura del incubador de calor o del baño de agua se estableció en 64°C ( $\pm 2,0^\circ\text{C}$ ).
- b) Se ha seleccionado la cantidad necesaria del material para analizar. Se separó una o más ampollas. Se ha evitado la ruptura de la lámina del resto de la bandeja para el secado de las ampollas. Se guardó inmediatamente las pruebas que no se utilizó en las condiciones de almacenamiento recomendado. Se ha perforado la lámina de aluminio para abrir la ampolla.



- c) Se añadió las muestras de leche, homogéneas y representativas del lote que se está analizando. Se introdujo en las ampollas 0,1 ml de cada leche a analizarse. Se ha utilizado una punta de pipeta limpia y nueva para cada muestra.
- d) La incubación del test. Al utilizar placas, se ha encubierto la prueba con una hoja adhesiva incluida en la caja. Se ha introducido las placas o ampollas en la incubadora precalentada (baño de agua). Y se ha dejado incubar los test durante 3 horas.
- e) La lectura. El color resultante se ha visualizado en los 2/3 inferiores de la ampolla o por debajo de la placa. Una muestra resulta negativa cuando el color es (parcialmente) amarillo. (Inserto adjunto del kit).

### 3.6.2. Determinación de la acidez

Se consideró la metodología propuesta por la NTP 202.116:2000, y se expresó la acidez como ácido láctico.

Se colocó 10 mL de leche en un matraz Erlenmeyer. Se añadió 02 gotas de fenolftaleína y se procede a la titulación con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

#### Cálculos

$$\text{Acidez g/L (ácido láctico)} = (V \times N \times 90)/M$$

En donde:

V= volumen de solución de hidróxido de sodio 0.1 N gasto en la titulación de la muestra, en ml.

N= normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

M= volumen de la muestra en mL.





90= equivalente del ácido láctico.

NOTA: un ml De NaOH 0.1 N es igual a 0.0090g de ácido láctico

Método tomado de: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMx-F-420-S-1982.PDF>

### 3.7. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos discretos (número de positivos) obtenidos se han analizado mediante la prueba estadística Ji cuadrada y los resultados fueron interpretados en frecuencias ó porcentajes, acompañado de figuras en barras.

$$x^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

	Positivo	negativo	total
Jun	5 6	45 44	50
jul	7 6	43 44	50
	12	88	100

$$x^2 = 0.36$$



## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE FRESCA COMERCIALIZADA EN LOS MERCADOS DE SICUANI.

Para el porcentaje de leche fresca comercializada con residuos de antibióticos en el distrito de Sicuani, se encontró de un total de 100 muestras de leche reflejaron 12 % de positivos a la presencia de antibióticos; lo cual indica que podría afectar a la salud de los consumidores en producir la ocurrencia de resistencia cuando estén recibiendo tratamientos con los referidos fármacos.

El valor encontrado en el presente trabajo es inferior a los que reporto Huaranca, (2018), quien en 100 muestras analizadas durante los meses de febrero y abril del 2018, en las comunidades de mayor producción de leche bovina del distrito de Taraco encontró que el 20% de muestras son positivos a residuos de antibióticos betalactámicos, esta diferencia sería probablemente porque el estudio lo realizo en los meses donde hay mayor uso de fármacos, así mismo reporta Carrasco, (2014), quién en 250 muestras de leche fresca comercializada en diferentes lugares de expendio de Chiclayo encontró 17.2% de muestras positivas al contenido de antibióticos  $\beta$ -lactámicos y tetraciclinas. Veisseire, (1988), manifiesta que, la ingestión de leche contaminada con penicilina puede provocar una antibioresistencia con infecciones posteriores rebeldes en los lactantes que la ingieren.

Similar trabajo realizo Guerrero, (2009), en el que analizo cuarenta muestras de leche cruda comercializada en mercados del distrito del Callao, entre enero y marzo del 2009, empleando el método presuntivo para antibióticos  $\beta$ -lactámicos y tetraciclinas de



IDEX Laboratories encontrando 40% de muestras con resultado positivo para residuos de  $\beta$ -lactámicos en leche cruda. Estos resultados son muy superiores a los nuestros esto se debería por la falta de control y sensibilización por parte de las autoridades competentes.

Del mismo modo Chávez (2013), analizó leche fresca entera destinada a la elaboración de productos lácteos de la Empresa Gloria S.A., de un total de 452 muestras de leche de vaca procedentes de los centros de abastecimiento de las localidades de Puente Piedra, Cañete, Chincha, Huachipa, Huacho, Huancayo, Huaral, Lurín, Pisco y Supe, el 2.7% presenta antimicrobianos. Estos resultados son inferiores a los resultados del presente estudio. La diferencia se debería al control estricto y a las condenas y/o castigos impuestos a la leche contaminada en dicha empresa; mientras en la localidad de Sicuani se atribuiría a la falta de sensibilización de los productores de leche. Como también Camacho, (2010).

Analizo 129 muestras con el Kit comercial Delvotest® SP reportando que la leche comercializada por los productores, mostró mayor presencia de residuos de antibióticos (11.63%), mientras que la comercializada por los revendedores presentó un 6.97% de prevalencia.

**Tabla 6. Porcentaje de leche fresca comercializada con residuos de antibióticos en el distrito de Sicuani, según meses.**

Meses	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Junio	50	5	10.00
Julio	50	7	14.00

Fuente: Elaboración propia ( $P \geq 0.05$ )

En la tabla 6, refleja porcentaje de muestras de leche con presencia de residuos de antibióticos según meses; en donde se ha encontrado en el mes de julio el 14.0 % de

positivos y en el mes junio el 10.0 %, los mismos a la prueba estadística de Ji cuadrada no mostró diferencias ( $P \geq 0.05$ ), lo cual indica que en cualquier mes presentaría enfermedades reproductivas o mastitis que podrían recibir tratamientos con antibióticos las vacas productoras de leche; del cual resulta la presencia de residuos de los antibióticos en la leche comercializada en los mercados del distrito de Sicuani.

**Tabla 7. Proporción de leche fresca comercializada con residuos de antibióticos en el distrito de Sicuani, según mercados.**

<b>Mercados</b>	<b>Número Total</b>	<b>Positivos</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Central	38	4	10.53
Bombonera	33	6	18.18
Tiendas	17	1	5.88
Otros(productores)	12	1	8.33

Fuente: Elaboración propia ( $P \geq 0.05$ )

En la tabla 7, se observa la proporción de leche fresca comercializada con residuos de antibióticos en el distrito de Sicuani, según mercados; en el cual, los mercados central bombonera, tiendas y otros que se expenden en las calles; mostraron desde 10.5 a 5.90 % de positivos a la contaminación con antibióticos; los mismos que fue similar a la prueba estadística ( $P \geq 0.05$ ). Lo cual, indica que la leche está contaminada en los puestos de expendio en similar proporción; esta semejanza se debería más a los criadores de vacas en producción de leche.

Similar resultado obtiene Ortiz, (2007) quién registra el 16% de positivos a residuos de antibióticos betalactámicos en las instalaciones de la planta de Majes de la empresa Gloria S.A. en Arequipa; la misma que fue corroborado con el test Snap-Beta-Lactam de IDEXX Laboratories (EE UU). Este estudio fue realizado con dos métodos y llegaron al mismo resultado lo que indica que ambos métodos son confiables. No obstante



que, Llanos, (1991), hizo el estudio en Cajamarca, en el cual encontró el 20% de muestras positivas a residuos de antibióticos, un resultado superior al resultado del presente estudio. Esta diferencia se podría atribuir al tipo de prueba microbiológica que realizo que es en placa, que son menos sensibles para detectar dichos residuos; ya que, en el presente trabajo, las muestras se analizaron con el kit Delvotest que es más precisa y está aprobada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

Así mismo Alvarado, (2010) analizo la Residualidad en Leche de una Infusión Antibiótica Intrauterina sobre la base de Cefalexina, Neomicina, Cloxacilina y Vitamina A (Metricef 3®) en vacas lecheras del distrito de Pachacamac, departamento de Lima” con el Kit Devotest SP – NT y sus resultados fueron nulos a los residuos de antibiótico lo cual corroboraría la sensibilidad del kit.

También Salas, (2017). Realizo estudios en vacas tratadas contra mastitis analizando residuos de antibióticos betalactámicos mediante un ensayo inmunoenzimático para lo cual colectaron muestras de leche de 60 vacas, El 45.0% (27/60) resultó positivo a residuos de antibióticos. Asimismo, el 50.0% (14/28) de los animales tratados por vía intramuscular y 40.6% (13/32) por vía intramamaria fueron positivos; y 46.7%(7/15), 57.1% (12/21) y 33.3% (8/24) de las vacas de baja, media y alta producción, respectivamente, fue positiva a la prueba.

De la misma manera se realizan similares trabajos a nivel internacional, como noa, (2009) encontrando La mayor frecuencia de contaminación en el mes de agosto con 27.3%. Del mismo modo otros trabajos reportan resultados muy superiores a nuestro trabajo así lo corrobora Máttar, (2009).

## 4.2. INFLUENCIA DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS EN LA ACIDEZ DE LA LECHE FRESCA

Los resultados de la acidez de la leche proveniente de los lugares de expendio se muestran en la Tabla 9, en ella se aprecia que los valores de acidez se encuentran dentro del rango establecido en el Decreto Supremo N° 007-2017-MINAGRI, Reglamento de la leche y productos lácteos, Art. 8, no obstante, el promedio de acidez provenientes de la variable otros (productores) es menor que los demás lugares de comercialización de leche fresca del distrito de Sicuani.

**Tabla 8. Acidez de la leche fresca\***

	Acidez (g Ácido Láctico/100g)	N° de muestras
M central	0.1621±0.0202	38
M bombonera	0.1672±0.0265	33
Tiendas	0.1605±0.0250	17
Otros(productores)	0.16±0.0235	12
<b>Promedio</b>	<b>0.16245±0.0238</b>	<b>25</b>
<b>Maxima**</b>	<b>0.17</b>	
<b>Mínima**</b>	<b>0.13</b>	

\*Datos totales en el anexo.

\*\*Decreto Supremo N° 007-2017-MINAGRI, Art. 8.

Por otra parte, en la Figura 2 se muestra los LI y LS de la acidez basados en los rangos establecidos por el Decreto Supremo N° 007-2017-MINAGRI, Reglamento de la leche y productos lácteos, Art. 8; en ella se aprecia que el mayor número de muestras de leche fresca provienen del mercado central del distrito de Sicuani, haciendo un total de



38 muestras que representa el 38%, de los cuales se observa valores de acidez de los LS y LI de la misma manera los mercados la bombonera, tiendas y otros también presentan valores por encima del LS y por debajo del LI. De los cuatro lugares de comercialización de leche fresca presentan valores anómalos de acidez este hecho se puede deber a las formas de acopio y recopilación de la leche por parte de los vendedores además esto Corrobora Obregon, (2017) mencionando que, la acidez de la leche fresca muestra una débil correlación con la presencia de antibióticos  $\beta$ -lactámicos y tetraciclinas ( $r_s=0.08$ ), y de manera general el 51.4% y el 65.6% de los comités del distrito de San Jerónimo y del distrito de Andahuaylas respectivamente, reportan valores para de acidez dentro de los rangos establecidos ,ya que según Alais, (19855) la formas de alimentación, ordeño, animales en distinta fase de lactación, cambian la acidez de la leche, más aun el grado de higiene durante el ordeño y almacenamiento, es de esperar que guarde una relación directa con la manipulación y buen manejo de la leche antes de su llegada a los lugares de expendio, ello justificaría que sea más propenso a la variación si no se tiene un adecuado manejo viera, (2013), pues a medida que las bacterias se desarrollan en la leche, utilizan la lactosa transformándola en ácidos orgánicos principalmente láctico, aumentando así el nivel de acidez, sin embargo niveles bajos de acidez (menores a 0.13 %) podrían indicar adición de agua, neutralización de la leche con sustancias alcalinas o leches mastísticas CODEX, (2010).

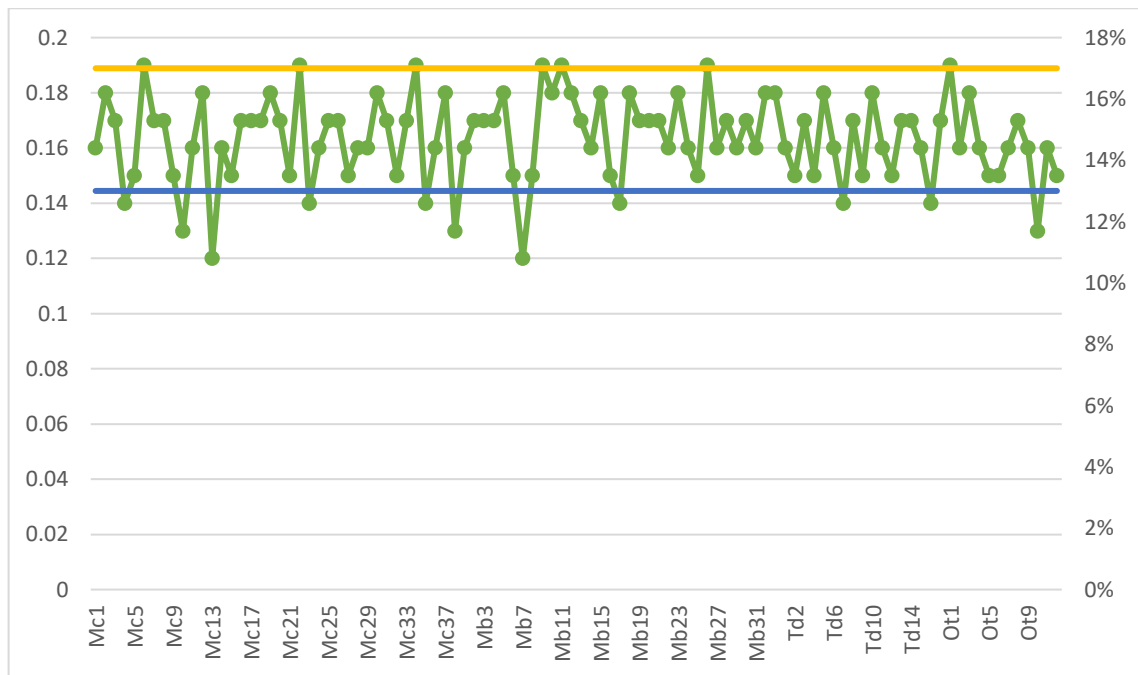


Figura 2. Análisis de control LI y LS para la acidez de la leche entera

Los valores más bajos de acidez fue para aquellas muestras que dieron positivo a residuos de antibiótico, esto se debe al hecho de la funcionalidad de los antibióticos, que es la inhibición de los microorganismos causantes de la acidez Alais, (1985), no obstante incluso inhiben completamente la fermentación en algunos casos o disminuyendo la retención de agua, originando una textura blanda y sabor amargo en los productos lácteos Fernández, (2012);menciona que la presencia de residuos de antibióticos en la leche es considerada ilegal, pues reduce la producción de acidez y aroma de la leche y de los productos derivados Bogialli, (2007), en vista de las bacterias naturales de la leche son muy sensibles a los antibióticos (tetraciclinas y  $\beta$ -lactánticos) y pueden darse situaciones en que los microorganismos nativos sean reemplazados por microorganismos indeseables, provocando la inutilización del producto o que se convierta en peligroso para el consumo humano Carreto, (2000).





## V. CONCLUSIONES

La presencia de residuos de antibióticos en leche fresca comercializada en la ciudad de Sicuani – cusco mediante el método de la prueba comercial de difusión estándar Delvotest® T. Fue de 12.0 % de un total de 100 muestras analizadas. La presencia de residuos de antibiótico fue similar en las muestras de leche expandidas entre los meses de junio y Julio; asimismo entre los diferentes puestos de expendio, para el mercado la Bombonera fue un 18.10 % respecto al mercado central que fue un 10.53 % de muestras positivas respectivamente.

La acidez como criterio de calidad físico químico, en la leche fresca comercializada en mercados tiendas y otros (productores) de la ciudad de Sicuani, muestran una débil correlación con la presencia de antibióticos, aunque siete de las muestras que dieron positivo a la prueba de antibióticos presentan valores de acidez dentro de los rangos establecidos en el Decreto Supremo N° 007-2017-MINAGRI, Art. 8.



## VI. RECOMENDACIONES

Implementar educación sanitaria sobre el tratamiento de las vacas con metritis y mastitis, y así evitar la venta de leche con presencia de antibióticos.

El gobierno local y central deberían de implementar planes estratégicos de control y supervisión en los puestos de expendio de leche fresca, con la finalidad de sensibilizar a los vendedores y a los consumidores y así evitar el consumo de leche fresca contaminado con medicamentos, que puede ser dañino para la salud de las personas que lo consumen.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Althaus, R. (2003). Detection Limits of Antimicrobial in Ewe Milk by Delvotest Photometric Measurements. *J. Dairy Sci.*, vol. 86, n° 2, p. 457 – 463.
- Alvarado, A. (2011). Detección de residuos de una suspensión antibiótica comercial en base a amoxicilina y gentamicina (Amoxigentin) en leche vacuna. En [www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/antibiotico-en-leche-t29290.htm](http://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/antibiotico-en-leche-t29290.htm).
- Alais, CH. (1985). *Ciencia de la leche*. Editorial Reverté, Barcelona, España.
- Alimentarios, C. (2011). *Límites Máximos de Residuos para Alimentos*.
- Barreda, A. (2012). Determinación de residuos de antibióticos  $\beta$ -lactámicos y Tetraciclinas en leche cruda de cinco ganaderías ubicadas en el Municipio de San Luis Talpa y en leche pasteurizada. Tesis universidad de el salvador.
- Bogialli S, Di Corcia A, Laganà A, Mastrantoni V., Segi M. (2007). A simple and rapid confirmatory assay for analyzing antibiotic residues of the macrolide class and lincomycin in bovine milk and yoghurt; hot water extraction followed by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid commun mass spectrom*, 21(2): 237-246.
- Brunton, L. Goodman ε Gilman. (2007) *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Trads. Eds. JS Lazo; KL Parker. 11 ed. México, DF, McGraw-Hill Interamericana. P. 1127-1143, 1173-1118
- Cabrera, M. (2003). *Cómo obtener leche de buena calidad*. Obtenido en la Red Mundial en 27/11/2017. Recuperado en [www.turipana.org.co/leche.htm](http://www.turipana.org.co/leche.htm) - 52k



- Camacho, L. M. (2010). Residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en la región Tierra Caliente, de Guerrero, México. REDVET. Rev. Electrón. vet. Vol. 11, N° 02.
- Carreto L. (2005). Impacto de la presencia de antibióticos en leche. Procedente del 5° Taller Panamericano de Laboratorios Lácteos; nov. 2005 1-5; Colonia Suiza, Montevideo.
- Cottrino, V. (2001). Residuos de antibióticos. En: Memorias de curso “Cómo producir leche de óptima calidad. Bogotá.
- CODEX (2012). Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos. CODEX Alimentarius, International Food Standards, p19.
- COPROICA (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria). (2003). Los residuos de medicamentos en la leche: Problemática y estrategias para su control. Eds. ME Parra; L Peláez; JE Londoño; N Pérez; G Rengifo. Neiva, CO, El Poirá. p. 19-60.
- Charles A. (2003). Ciencia de la Leche, principios de la técnica lechera, página 13,21. Editorial Acribia, Zaragoza España.
- Chávez Campos, L. P. (2013). Determinación de residuos antimicrobianos en leche fresca entera utilizada para la elaboración de productos lácteos mediante el método delvotest, enero-diciembre del 2012.
- Duarte, E. &. (2016). Uso de antibióticos de en la ganadería lechera. Artículo publicado, Issues, Innovación, Impac. Contenido, publicado por Uploads.
- Decreto Supremo N° 007-2017-MINAGRI. Decreto Supremo que aprueba el reglamento de la leche y productos lácteos, publicado en el Diario El Peruano el 26 de junio de 2017.



- Engebretson, D. (2010). Diez razones comunes por las cuales ocurre la Contaminación con antibióticos en los tanques de leche a granel feeds, ed by Moats, W. A. in agriculture uses of antibiotics; A. C. S.
- FAO. (2004). Uso de antimicrobianos en animales de consumo. Obtenido de FAO producción y sanidad animal:<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5468s/y5468s00.pdf>
- Fernández D. (2012). Evaluación de los métodos de unión a receptores proteicos para la detección de antibióticos en la leche cruda de cabra. Tesis de Master. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia. 60 p
- Guerrero, D. (2009). Detección de residuos de antibióticos  $\beta$ -lactánticos y tetraciclinas en leche cruda comercializada en el Callao. Rev. Ciencia e Investigación 2009; 12(2): 79-82 Fac. Farmacia y Bioquímica UNMSM.
- Gutiérrez, G. (2001). Estudio de residuos de antibióticos en leche.
- Jeness, R.; Shipe, W y Sherbon, J. (1974). Physical properties of milk. En Webb, B; Johnson. A y Alford, J. Fundamentals of Dairy Chemistry. The Avi Publishing Company, Inc Westport, Conneticut. 929p.
- Kempe M.; Verachtert B. (2000). Cartridges with molecularly imprinted recognition elements for antibiotic residues monitoring in milk cream. Pure and applied Biochemistry, Lunds Universitét Centre for Chemistry and Chemical Engineering Getinge vagen, Lund Sweden.
- Llanos, G. (1991). Determinación de residuos de antibióticos en la leche fresca que consume la población de Cajamarca. Rev. Amazónica de Investigación Alimentaria v.2 n°2 p. 35-43.
- Magariños, H. (2000). Producción higiénica de la leche cruda. Valdivia, CL: Producción y servicios incorporados.



- Máttar, S. (2009). Detección de Antibióticos en Leches:  
Un Problema de Salud Pública Rev. Salud pública. 11 (4): 579-590, 2009
- Mella, S. S. (2001).
- Noa, E. (2009). Evaluación de la presencia de residuos de antibióticos y  
Quimioterapéuticos en leche en jalisco, México Rev. Salud Anim. Vol. 31 No. 1  
(2009): 29-33
- Norma Técnica Peruana (2003), Leche y Productos Lácteos. Leche  
Cruda Requisitos, Lima: Perú, 4a edición.
- Ortiz, C.; Vera, R.; Cayro, J. (2007). Frecuencia de  $\beta$ -lactámicos y tetraciclinas  
en leche fresca en la cuenca de Arequipa. Rev Inv Vet, Perú 19(2):  
140-143.
- Parra, M. H. (2003). Los residuos de medicamentos en la leche, problemática y estrategia  
para su control. Manual técnico CORPOICA, Colombia.
- Pérez, R. (2010). Farmacología Veterinaria. Universidad de Concepción. Chile.
- Reyes, B. R. (2006). Acciones para evitar los efectos indeseables de la aplicación de  
antibióticos al ganado productor de leche.
- Roca, MI. (2008). Termoestabilidad de sustancias antimicrobianas en la leche. (En  
Línea). Tesis Dr. Valencia, ES. Universidad Politécnica de Valencia. 225 p.  
Consultado 24 abr 2012. Formato pdf. Disponible en:  
[riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/3022/tesisUPV2884.pdf](http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/3022/tesisUPV2884.pdf)
- Prado, G. C. (2002). Presencia de residuos y contaminantes en leche humana.
- Rodriguez, J. (2011). Antibióticos, piensos legales y piensos ilegales. Obtenido  
en la Red Mundial en 22/03/18.



- Salas, P. (2017). Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos mediante un ensayo inmunoenzimático en leche de vacas tratadas contra mastitis. *Rev Inv Vet Perú* 2013; 24(2): 252-255.
- Sumano, L. H., C. L. Ocampo, (2006). *Farmacología Veterinaria*. Edit. Mc Graw – Hill interamericana. México.
- Shahani, K. M., Whalen, J. (2001) *Significance of antibiotics in foods and*  
Veisseyre, R. *Lactancia Técnica*. Editorial Acribia. 2da. Edic. España 1980.
- Viera, M.A. (2013). *Parámetros de calidad de leche de vacuno en los distritos de Apata, Matahuasi y Concepción en el valle del Mantaro*. Tesis de grado, Universidad Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Vicente, D. &. (2010). *Enfermedades infecciosas*. Elseiver.
- Veisseyre Roger. *Lactancia Técnica* Editorial Acribia. Segunda Edición España. (1980).
- Wayne, W. D. (1999). *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud*. 3a. Edic. Edit. Limusa. México D.F.
- Zurich, L. y. (2004). *Residuos antimicrobianos en leche: Normas Sanitarias y concepto de residuos*. *Monografías de medicina Veterinaria*. *Revista Española de Salud Pública*, 133-147.



## ANEXOS

FICHA DE REGISTRO DE MUESTRAS			
LUGAR	NUMERO DE MUESTRAS	POSITIVOS	NEGATIVOS
MERCADO CENTRAL	38	4	34
MERCADO LA BOMBONERA	33	6	27
TIENDAS	17	1	16
OTROS	12	1	16
TOTAL	100	12	88

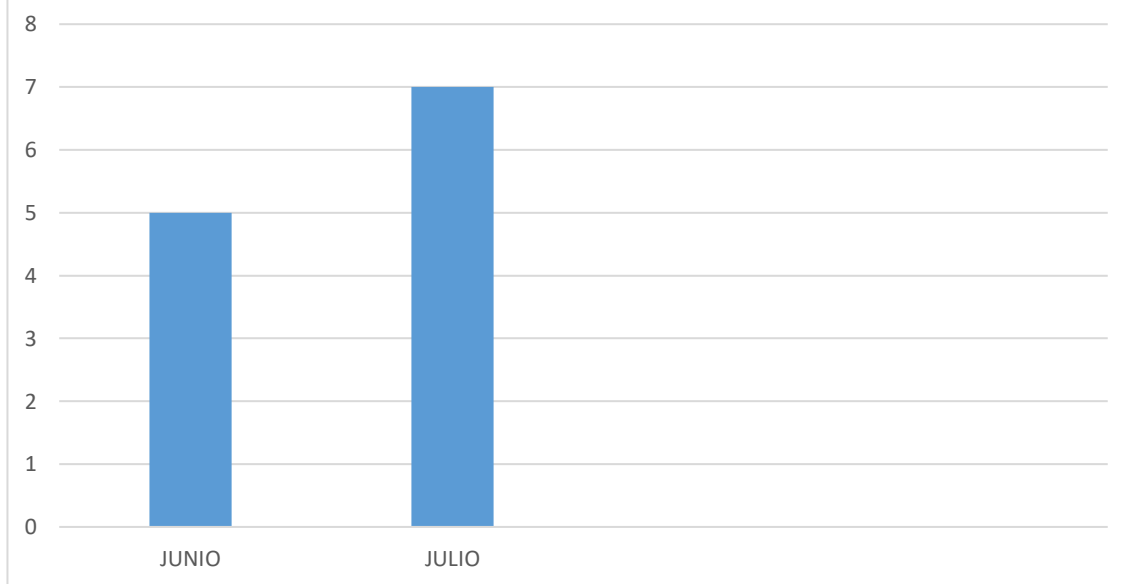


Figura 3. Presencia de residuos de antibióticos por meses.



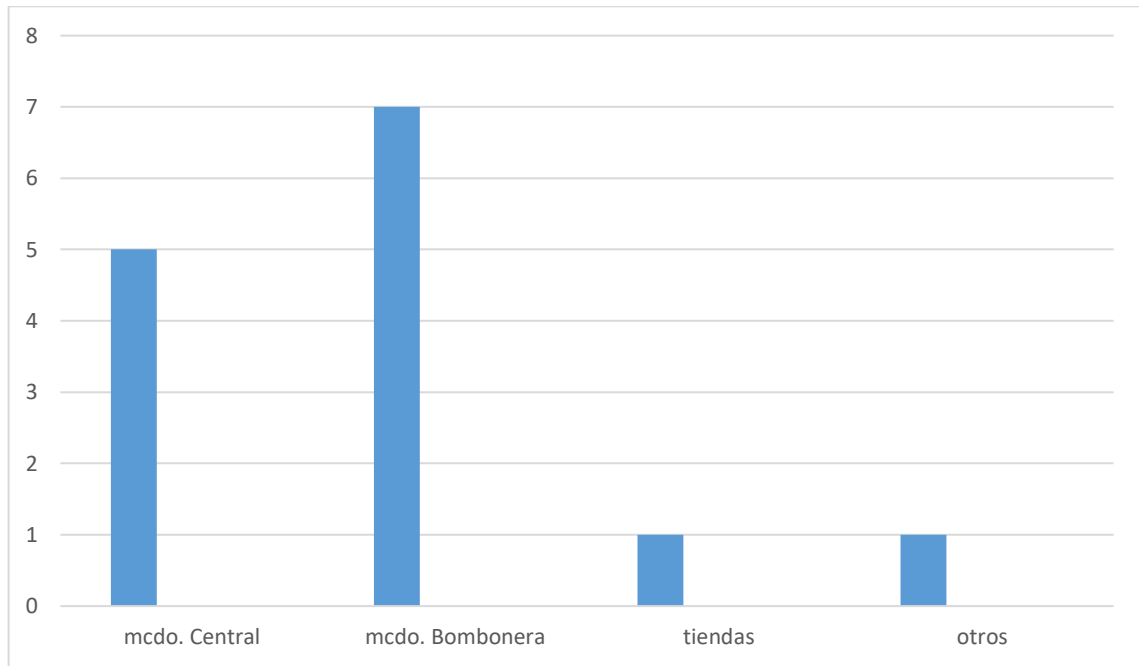


Figura 4. Presencia de residuos de antibióticos por lugares

N°	codigo	acidez	N°	codigo	acidez	N°	codigo	acidez	N°	codigo	acidez
1	Mc1	0.16	26	Mc26	0.17	51	Mb13	0.17	76	Td5	0.18
2	Mc2	0.18	27	Mc27	0.15	52	Mb14	0.16	77	Td6	0.16
3	Mc3	0.17	28	Mc28	0.16	52	Mb15	0.18	78	Td7	0.14
4	Mc4	0.14	29	Mc29	0.16	54	Mb16	0.15	79	Td8	0.17
5	Mc5	0.15	30	Mc30	0.18	55	Mb17	0.14	80	Td9	0.15
6	Mc6	0.19	31	Mc31	0.17	56	Mb18	0.18	81	Td10	0.18
7	Mc7	0.17	32	Mc32	0.15	57	Mb19	0.17	82	Td11	0.16
8	Mc8	0.17	33	Mc33	0.17	58	Mb20	0.17	83	Td12	0.15
9	Mc9	0.15	34	Mc34	0.19	59	Mb21	0.17	84	Td13	0.17
10	Mc10	0.13	35	Mc35	0.14	60	Mb22	0.16	85	Td14	0.17
11	Mc11	0.16	36	Mc36	0.16	61	Mb23	0.18	86	Td15	0.16
12	Mc12	0.18	37	Mc37	0.18	62	Mb24	0.16	87	Td16	0.14
13	Mc13	0.12	38	Mc38	0.13	63	Mb25	0.15	88	Td17	0.17



14	Mc14	0.16	39	Mb1	0.16	64	Mb26	0.19	89	Ot1	0.19
15	Mc15	0.15	40	Mb2	0.17	65	Mb27	0.16	90	Ot2	0.16
16	Mc16	0.17	41	Mb3	0.17	66	Mb28	0.17	91	Ot3	0.18
17	Mc17	0.17	42	Mb4	0.17	67	Mb29	0.16	92	Ot4	0.16
18	Mc18	0.17	43	Mb5	0.18	68	Mb30	0.17	93	Ot5	0.15
19	Mc19	0.18	44	Mb6	0.15	69	Mb31	0.16	94	Ot6	0.15
20	Mc20	0.17	45	Mb7	0.12	70	Mb32	0.18	95	Ot7	0.16
21	Mc21	0.15	46	Mb8	0.15	71	Mb33	0.18	96	Ot8	0.17
22	Mc22	0.19	47	Mb9	0.19	72	Td1	0.16	97	Ot9	0.16
23	Mc23	0.14	48	Mb10	0.18	73	Td2	0.15	98	Ot10	0.13
24	Mc24	0.16	49	Mb11	0.19	74	Td3	0.17	99	Ot11	0.16
25	Mc25	0.17	50	Mb12	0.18	75	Td4	0.15	100	Ot12	0.15

Figura 5: Acidez de la leche



Figura 6. Transporte de la muestra

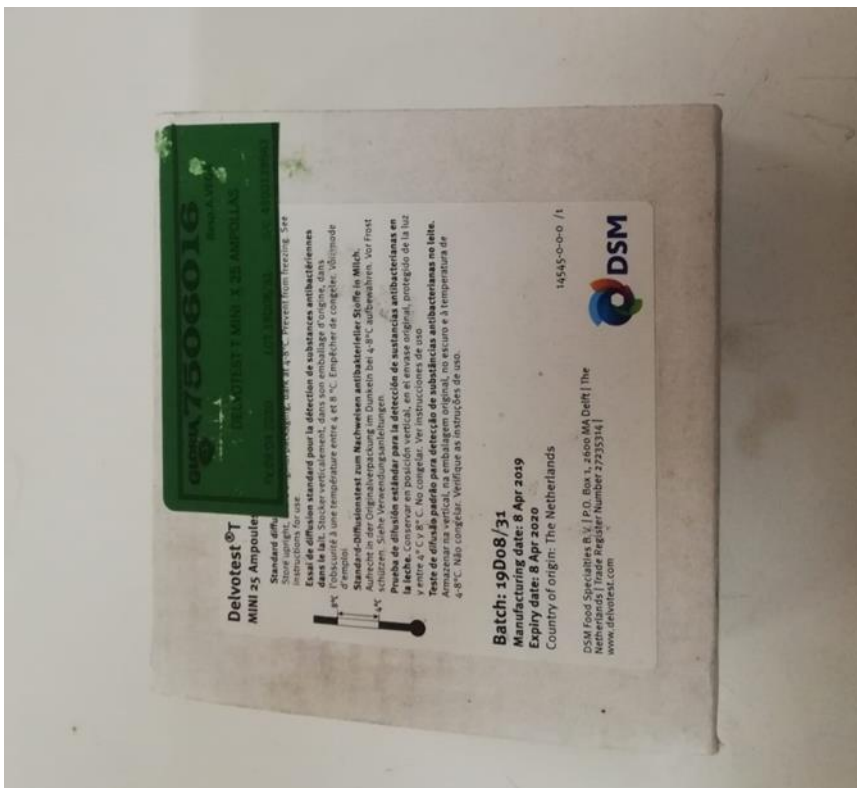


Figura 7. Kit delvotest



Figura 8. Sembrado de la muestra



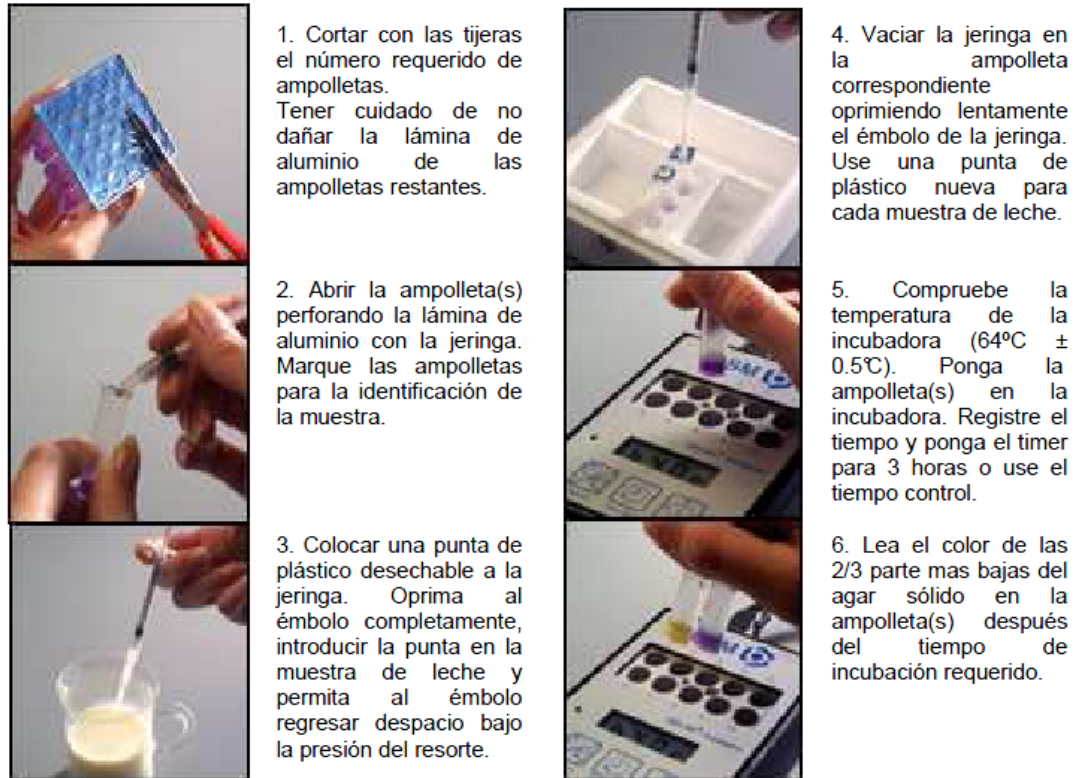


Figura 9. Procesamiento de la muestra foto instrucciones Delvotest®



Figura 10. Lectura de positivos y negativos