



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



**RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN HUEVOS DE GALLINA**  
**EXPENDIDOS EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO**  
**2023**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**ALEX BERNABE ALVARADO MAMANI**

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

**PUNO – PERÚ**

**2024**



NOMBRE DEL TRABAJO

**RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN HUEVOS DE GALLINA EXPENDIDOS EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO 2023**

AUTOR

**ALEX BERNABE ALVARADO MAMANI**

RECUENTO DE PALABRAS

**14084 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**79599 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**78 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**2.8MB**

FECHA DE ENTREGA

**May 29, 2024 1:12 PM EST**

FECHA DEL INFORME

**May 29, 2024 1:14 PM EST**

● **9% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 9% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 1% Base de datos de trabajos entregados
- 0% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 20 palabras)

  
MVZ Mg. Dr. Alberto Ccama Sulic  
Docente Principal FMVZ - UNA PUNO  
CMVP: 2187

  
Dr. Pedro Ubaldino Coila Apasco  
CMVP: 2842

Resumen



## DEDICATORIA

A mi amada hija, mi fuente inagotable de inspiración, Astrid Gabriela Alvarado Mérida.

Desde el momento en que llegaste a mi vida, has sido mi mayor motor, mi razón para alcanzar nuevas alturas y superar cualquier obstáculo. Tu presencia ha iluminado cada paso de este camino, infundiéndome en mí una determinación inquebrantable y un amor sin límites.

A mi querido padre, Bernabé Alvarado, por tu constante respaldo y apoyo en todas mis decisiones. A pesar de todas las circunstancias, nunca dejaste de confiar en mí. Tus palabras justas y consejos han sido una guía invaluable en mi vida. Para mí, eres el mejor padre del mundo. Esta tesis está dedicada a ti, como gratitud por tu influencia positiva en mi vida.

A mi adorada madre, María Salome, por el amor y cariño incondicional que siempre me has brindado. Tu constante apoyo y firmeza han sido un verdadero sustento en mi vida. Eres un ejemplo de superación y trabajo que me inspira cada día. No encuentro palabras suficientes para expresar lo que significas para mí y lo profundamente agradecido que estoy contigo, mamita.

A mi hermano Ulises, por tus valiosos consejos, enseñanzas y por creer firmemente en mis capacidades. Tu constante orientación y sabias palabras han sido un apoyo fundamental en mi camino, inspirándome a superar desafíos y lograr mis metas.

A mi hermana Maribel, agradezco tu apoyo incondicional. Tu admirable dedicación y arduo trabajo son una fuente constante de inspiración para mí. Estaré eternamente agradecido por todo lo que has hecho por mí a lo largo de mi vida.

A mi hermana Ruth Verónica, mi compañera desde el primer suspiro. Tu cercanía y complicidad han sido un refugio seguro y una fortaleza inquebrantable. Agradezco profundamente tu amor y apoyo constante.

**Alex Bernabé Alvarado Mamani**



## AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a mi alma mater, la Universidad Nacional del Altiplano, y en particular a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por brindarme la oportunidad de desarrollarme académicamente en un entorno de excelencia. La formación recibida ha sido fundamental para mi crecimiento profesional y personal.

Mi más sincera gratitud al Dr. Alberto Ccama Sullca, por su incansable orientación, dedicación y apoyo durante la elaboración de esta tesis. Su vasta experiencia y profundo conocimiento han sido invaluable para enriquecer este trabajo y llevarlo a buen puerto. Sin su guía, este logro no habría sido posible.

A los distinguidos miembros del jurado, D.Sc. Faustino Adolfo Jahuirá Huaracaya, Dr. Domingo Alberto Ruelas Calloapaza y M.Sc. Abigail Teresa de la Cruz Pérez, les expreso mi más sincero agradecimiento por su tiempo, esfuerzo y valiosas contribuciones a esta investigación. Sus comentarios y sugerencias han sido esenciales para la mejora y el enriquecimiento de este trabajo, aportando una perspectiva crítica y constructiva.

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a mis amigos Alejandro, Huber, Daty y Ronald. Su constante apoyo y amistad han sido fundamentales en mi vida. Agradezco sinceramente su presencia y aprecio su inquebrantable respaldo en los momentos más difíciles. Su compañía ha enriquecido mi camino y ha sido un pilar invaluable en mi crecimiento personal y académico.

**Alex Bernabé Alvarado Mamani**



# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>DEDICATORIA</b>	
<b>AGRADECIMIENTO</b>	
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>	
<b>ACRÓNIMOS</b>	
<b>RESUMEN .....</b>	<b>13</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b>	
<b>1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>17</b>
1.1.1. Objetivo general.....	17
1.1.2. Objetivos específicos .....	17
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
<b>2.1. ANTECEDENTES .....</b>	<b>18</b>
2.1.1. Antecedentes Internacionales .....	18
2.1.2. Antecedentes nacionales .....	24
<b>2.2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>25</b>
2.2.1. Generalidades de la Gallina ( <i>Gallus gallus</i> ) .....	25
2.2.2. Clasificación biológica de la gallina.....	26
2.2.3. Huevo de gallina .....	26



2.2.4. Contenido nutricional del huevo de gallina .....	27
2.2.5. Antibióticos en la industria avícola .....	29
2.2.6. Relevancia de regular la administración de antibióticos en la producción avícola .....	30
2.2.7. Metabolismo y excreción de los antibióticos.....	31
2.2.7.1. Biotransformación hepática .....	32
2.2.7.2. Excreción biliar .....	32
2.2.8. Importancia en la salud publica .....	33
2.2.9. Residuos de antibióticos en huevos de gallina.....	33
2.2.10. Resistencia bacteriana .....	33
2.2.11. Métodos para analizar residuos antibacterianos.....	35
2.2.11.1. Técnica rápida: prueba STOP .....	36
2.2.11.2. Método microbiológico de difusión de las cuatro placas.....	36
2.2.11.3. Método de cribado de las tres placas .....	37

### **CAPÍTULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1. <b>UBICACIÓN</b> .....	39
3.2. <b>POBLACIÓN Y MUESTRA</b> .....	39
3.2.1. Población .....	39
3.2.2. Muestra .....	40
3.3. <b>MATERIALES</b> .....	41
3.3.1. Materiales para toma de muestras.....	41
3.3.2. Materiales biológicos .....	41
3.3.3. Materiales de laboratorio .....	42
3.3.4. Medio de Cultivo .....	43



3.3.5. Equipos .....	43
3.4. <b>METODOLOGÍA</b> .....	43
3.4.1. Preparación de agar Müeller Hinton .....	43
3.4.2. Preparación del inóculo <i>Bacillus subtilis</i> .....	44
3.4.3. Distribución de agar en placas Petri .....	45
3.4.4. Sembrado de placas: .....	45
3.4.5. Técnica de Sacabocado .....	46
3.4.6. Preparación de muestras .....	46
3.4.7. Cultivo de muestras .....	46
3.4.8. Lectura de resultados .....	46
3.5. <b>DISEÑO ESTADISTICO</b> .....	47

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1. <b>DETECCIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN MUESTRAS DE HUEVOS DE GALLINA</b> .....	49
4.2. <b>DETECCIÓN DE HUEVOS DE GALLINA POSITIVOS EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO</b> .....	54
4.2.1. Positivos.....	54
4.2.2. Negativos .....	56
4.2.3. Dudosos .....	57
4.3. <b>COMPARACIÓN ESTADÍSTICA DEL COMPORTAMIENTO DE LA PRESENCIA DE ANTIBIÓTICOS EN HUEVOS COMERCIALIZADOS EN LOS DIVERSOS MERCADOS.</b> .....	60
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	<b>62</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	<b>63</b>



<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>64</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>71</b>

**Área: Salud pública.**

**Tema: Residuos antibióticos en huevos expendidos en la ciudad de Puno.**

**FECHA DE SUSTENTACIÓN: 31 de mayo de 2024.**



## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
FIGURA 1 Huevos de gallina positivos, negativos y dudosos a residuos de antibióticos .....	53
FIGURA 2 Resultados de huevos de gallina positivos, negativos y dudosos en diferentes mercados de la ciudad de puno. ....	59



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1 Composición química del huevo .....	28
Tabla 2 Distribución de muestras por mercado .....	41
Tabla 3 Porcentaje de huevos de gallina de los mercados de la ciudad de Puno que resultaron positivos, dudosos y negativos a la prueba de detección de residuos de antibióticos.....	49
Tabla 4 Resultados de huevos de gallina positivos, negativos y dudosos en diferentes mercados de la ciudad de Puno.....	54
Tabla 5 Resultados del análisis estadístico Chi-cuadrado de Pearson.....	60



## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
ANEXO 1: Fotos de muestra y procedimiento .....	71
ANEXO 2: Protocolo de la técnica cualitativa de detección de residuos antibióticos ...	76
ANEXO 3: Declaración jurada de autenticidad de tesis.....	77
ANEXO 4: Autorización para el depósito de tesis en el repositorio institucional .....	78



## ACRÓNIMOS

MINAGRI:	Ministerio de Agricultura y Riego
SENASA:	Servicio Nacional de Sanidad Agraria
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FAOSTAT:	Organización para la Agricultura y Alimentación
CCE:	Comité Científico Veterinario de la Comisión de la Comunidad Europea
SENAMHI:	Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú
TSA:	Tripticaya de Soya
HPLC:	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
MS:	Espectrometría de masas



## RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de residuos de antibióticos en huevos de gallina comercializados en los mercados de la ciudad de Puno. Se recolectó una muestra de 196 huevos de gallina entre mayo y julio de 2023, los cuales fueron analizados en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, mediante el método microbiológico de tres placas, utilizando *Bacillus subtilis* como indicador de la sensibilidad a los antibióticos. Los resultados obtenidos al medir el tamaño del halo de inhibición determinaron que el 35.20% de los huevos analizados contenían residuos de antibióticos, mientras que el 43.88% resultaron negativos y el 20.92% fueron dudosos a la prueba. Sin embargo, el análisis estadístico mediante el Chi-cuadrado de Pearson arrojó un valor de 6.381 ( $p = 0.382$ ) y una Razón de Verosimilitud de 6.875 ( $p = 0.333$ ), no revelando diferencias significativas entre los mercados ( $P > 0.05$ ). En conclusión, se comprobó moderada presencia de antibióticos en los huevos de gallina de los mercados de Puno, resaltando la necesidad de mejorar las prácticas de manejo en la producción avícola para garantizar la inocuidad alimentaria de los huevos de gallina comercializados.

**Palabras Clave:** Antibiótico, *Bacillus subtilis*, Huevo de gallina.



## ABSTRACT

This research aimed to determine the presence of antibiotic residues in chicken eggs marketed in the markets of the city of Puno. A sample of 196 chicken eggs was collected between May and July 2023, which were analyzed in the Microbiology laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of the National University of the Altiplano - Puno, using the microbiological method of three plates, using *Bacillus subtilis* as an indicator of antibiotic sensitivity. The results obtained by measuring the size of the inhibition halo determined that 35.20% of the eggs analyzed contained antibiotic residues, while 43.88% tested negative and 20.92% were inconclusive. However, the statistical analysis using Pearson's Chi-square test yielded a value of 6.381 ( $p = 0.382$ ) and a Likelihood Ratio of 6.875 ( $p = 0.333$ ), not revealing significant differences between the markets ( $P > 0.05$ ). In conclusion, moderate presence of antibiotics in the chicken eggs from the markets of Puno was confirmed, highlighting the need to improve poultry management practices to ensure the food safety of the marketed chicken eggs.

**Keywords:** Antibiotic, *Bacillus subtilis*, chicken egg.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La avicultura se destaca como el subsector de mayor expansión dentro de la producción agrícola, especialmente en naciones en desarrollo como el caso de Perú. Se anticipa que la demanda de carne de ave y huevos continuará aumentando, lo que expondrá a esta industria a diversos desafíos. Según la FAO, la producción global de huevos ha experimentado un aumento triple desde 1970, y expertos de la Comisión Internacional del Huevo proyectan que, en un futuro cercano, la producción de huevos superará la de carne de res. Este fenómeno puede atribuirse al uso generalizado de los huevos en la industria alimentaria. Los productos derivados del huevo ya sean líquidos, congelados, secos o en polvo, son empleados principalmente en la industria alimentaria con propósitos de aglutinación, espesamiento y emulsificación. La presencia de residuos de antibióticos en alimentos de origen animal ha generado inquietudes a nivel global debido a sus repercusiones en la salud pública, la seguridad alimentaria y la industria (Montero et al., 2005)

La presencia de residuos de antibióticos, tales como penicilinas, tetraciclinas, sulfonamidas y aminoglucósidos, puede ocasionar daños de naturaleza crónica, dando lugar a toxicidad y provocando diversas reacciones alérgicas. Estas reacciones adversas abarcan desde urticaria, fiebre y broncoespasmo hasta dermatitis exfoliativa y anafilaxia. Los individuos más propensos a experimentar estos efectos son los infantes y los adultos mayores, quienes constituyen la población más susceptible a dichas consecuencias (Goodman & Gilman, 2007).

En el año 2021, cada persona en el Perú consumió en promedio alrededor de 15.2 kilogramos de huevos, lo que representa aproximadamente 243 unidades. En la región de



Puno, ese mismo año, el consumo por persona fue de 6.5 kilogramos de huevo, equivalente a unas 104 unidades. Estos datos destacan la relevancia del huevo como alimento ampliamente consumido por la población, planteando una preocupación significativa sobre la posible presencia de residuos de antibióticos, lo cual podría constituir un riesgo para la sanidad tanto humana como veterinaria. (Ministerio de Agricultura y Riego, 2021)

Esta investigación surge ante la creciente inquietud por la seguridad alimentaria y la salud pública en la cría intensiva de gallinas para la producción de huevos, donde el uso abundante de antibióticos presenta riesgos para la salud animal y humana. Enfocándose en los mercados de Puno, la tesis busca analizar la presencia de residuos de antibióticos en huevos, comprendiendo sus implicaciones y proponiendo mejoras para asegurar la calidad y seguridad de los productos avícolas.

El método microbiológico de tres placas aplicado meticulosamente reveló una moderada presencia de residuos de antibióticos en los huevos de gallina de los mercados estudiados, resaltando la importancia de un análisis exhaustivo de la seguridad alimentaria en la región. En última instancia, la investigación aspira a contribuir a prácticas más informadas y sostenibles en la producción y comercialización de huevos en la ciudad de Puno, promoviendo un enfoque integral para garantizar la calidad y seguridad de los productos avícolas y la salud pública.



## **1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.1.1. Objetivo general**

- Determinar la presencia de residuos de antibióticos en huevos de gallina expendidos en los mercados de la ciudad de Puno – 2023

### **1.1.2. Objetivos específicos**

- Analizar huevos de gallina expendidos en los mercados de la ciudad de Puno, para detectar residuos de antibióticos.
- Estimar el porcentaje de residuos de antibióticos en huevos de gallina expendidos en los mercados de la ciudad de Puno.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. ANTECEDENTES

##### 2.1.1. Antecedentes Internacionales

Wang et al. (2023) señalan la preocupante amenaza que representan los antibióticos presentes en los huevos de aves de corral para la salud humana. Sin embargo, la falta de suficiente monitorización e investigación impide conocer las clases y concentraciones específicas de estos antibióticos en los huevos de aves de corral en el suroeste de China. En el año 2020, se recopilaron 513 muestras de huevos de supermercados y mercados agrícolas en la ciudad de Kunming, las cuales fueron analizadas para evaluar los niveles de siete antibióticos mediante el método de cromatografía líquida de ultra alto rendimiento-espectrometría de masas en tándem (UHPLC-MS / MS). Los resultados revelaron que el 18.13% de las muestras dieron positivo para antibióticos, con una concentración máxima de 2.48  $\mu\text{g/g}$ . Los límites de detección y cuantificación en los huevos de aves de corral fluctuaron entre 0.002 y 0.010  $\mu\text{g/g}$  y entre 0.007 y 0.033  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente. Las recuperaciones promedio de los siete analitos variaron entre el 80.00% y el 128.01%, con desviaciones estándar relativas de menos del 13.97%. Se identificaron siete residuos de antibióticos en huevos de codorniz y tres en huevos de faisán. Además, se observaron residuos de antibióticos en los huevos de gallina de corral, siendo la sulfamonometoxina el antibiótico con la concentración más alta (1.00  $\mu\text{g/g}$ ).



Ma et al. (2022) en este estudio realizado en Shandong, China, se analizaron residuos de 24 antibióticos en 1211 muestras de huevos de aves de corral entre 2018 y 2020. La evaluación del riesgo de residuos se realizó mediante índices internacionales de seguridad alimentaria. De las muestras, el 8,58% mostró residuos de antibióticos, destacando el enrofloxacino, sulfonamidas y florfenicol. Los cálculos de los índices de seguridad alimentaria indicaron que, aunque se detectaron algunos antibióticos prohibidos durante la puesta de huevos, estos residuos no representaban una amenaza para la salud de los consumidores adultos chinos, según sus hábitos dietéticos diarios. Se recomienda reforzar el control del uso de antibióticos durante la puesta de huevos en Shandong.

Ben et al. (2022) Su estudio ofrece una evaluación exhaustiva que considera todas las fuentes de exposición y analiza cerca de 100 tipos de antibióticos. Se identificaron 58 compuestos antibióticos en muestras de agua potable ( $n = 66$ ) y 49 en alimentos ( $n = 150$ ) en Shenzhen, China. La evaluación de riesgos sugiere un riesgo potencialmente inaceptable para la salud debido a la ingesta diaria de norfloxacino, lincomicina y ciprofloxacino. se identificaron 16 antibióticos en más del 30% de los huevos analizados, sobresaliendo la presencia más elevada de enrofloxacina, trimetoprima y florfenicol, con una tasa de detección del 84%. Se recomienda investigación adicional para abordar las preocupaciones sobre la seguridad alimentaria relacionadas con los residuos de antibióticos en alimentos de origen vegetal y animal.

Yang et al. (2020) crearon y validaron un método de alto rendimiento para cuantificar residuos de gamitromicina en huevos, leche y tejidos animales mediante cromatografía líquida de ultra alto rendimiento-tandem de espectrometría de masas (UHPLC-MS/MS). El proceso implicó la extracción de



muestras con acetonitrilo y su purificación a través de un cartucho de extracción en fase sólida Oasis MCX. Se empleó una columna C18 para la separación cromatográfica con acetonitrilo y ácido fórmico al 0.1% como fase móvil. El análisis mediante LC-MS/MS en modo ESI positivo y monitoreo de reacciones múltiples con gamitromicina-D4 como estándar interno permitió la detección y cuantificación de gamitromicina. El método fue calibrado exitosamente en un rango de 1.0 a 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , con límites de detección y cuantificación de 0.30 a 0.40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y 0.80 a 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectivamente. Las recuperaciones promedio del analito fortificado en tres niveles fueron del 84.2% al 115.9%, con una desviación estándar relativa inferior al 10%. Este método ha sido utilizado eficazmente para monitorear muestras reales, demostrando ser sensible, rápido y conveniente. Su aplicación regulatoria puede ser valiosa para identificar residuos de gamitromicina en huevos, leche y tejidos específicos.

Barrantes (2019) llevó a cabo una investigación con el propósito de evaluar la prevalencia de enrofloxacino, ciprofloxacino y residuos de sarafloxacino, clasificados como antibióticos de importancia crítica según la FAO, OMS y OIE (2007), en huevos de gallina producidos en Costa Rica. El objetivo era proponer políticas relacionadas con el uso de medicamentos antibióticos en animales, así como avanzar en el abordaje de la resistencia antimicrobiana a nivel nacional. El estudio se basó en el análisis de sesenta y tres muestras de huevos recolectadas en diversas ubicaciones del país, utilizando una técnica confirmatoria mediante LC-MS/MS. Además, se aplicó un cuestionario a consumidores nacionales de huevo. La cantidad de muestras recolectadas se determinó conforme al Reglamento CODEX CAC/GL 71-2009 (Codex Alimentarius, 2014). En las muestras analizadas, se cuantificaron enrofloxacino y ciprofloxacino en huevos de gallina



adolescentes, y se detectaron concentraciones en otros ocho. Aunque la mayoría de las muestras se tomaron en la región centro-occidental, se encontraron muestras positivas en cinco provincias diferentes, sugiriendo un uso nacional de estos antibióticos, a pesar de estar prohibido. La encuesta realizada a trescientas veintisiete personas reveló que el 97% de los participantes incluyen huevos en su dieta habitual, siendo los huevos regulares los más consumidos. Además, el 96% de los encuestados considera importante realizar un seguimiento de los residuos de antibióticos en los huevos en Costa Rica, y acceder a esta información. Solo el 4% de la población consultada no desea recibir información al respecto. Este estudio evidencia un uso inadecuado de medicamentos veterinarios que contienen enrofloxacin como principio activo. Asimismo, destaca la necesidad de establecer políticas regulatorias en este ámbito y mejorar la educación y comunicación con los productores y consumidores nacionales.

Ji et al. (2021) investigaron la presencia de 34 residuos comunes de antibióticos (15 sulfonamidas y 19 quinolonas) en 236 huevos de pato destinados al consumo (ya sea salados o conservados), adquiridos a través de plataformas de comercio electrónico. Empleando cromatografía líquida de ultra rendimiento acoplada a espectrometría de masas en tándem, realizaron análisis detallados y evaluaron el riesgo dietético para los consumidores chinos. En las muestras de huevos de pato analizadas, identificaron 11 antibióticos, como sulfametazina, sulfaquinoxalina, sulfametoxazol, sulfadiazina, sulfamonometoxina, ciprofloxacina, enrofloxacin, ofloxacina, flumequina, sarafloxacina y ácido nalidíxico. Se observó una mayor presencia de antibióticos en los huevos de pato salados (cinco sulfonamidas y seis quinolonas) en comparación con los huevos de pato conservados (una sulfonamida y dos quinolonas). Las concentraciones



máximas de sulfonamidas y quinolonas alcanzaron los 448,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (sulfaquinoxalina) y 563,7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (enrofloxacino) en huevos de pato salados, respectivamente. La evaluación de la exposición dietética se realizó mediante la ingesta diaria estimada (EDI) de antibióticos considerados riesgosos (sulfametazina, ciprofloxacina y enrofloxacina), junto con los cocientes de riesgo (HQ). Los resultados indicaron que tanto los EDI como los HQ se encontraban en un rango seguro, oscilando entre 0,0004 y 0,0099  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal/día y de 0,0009 a 0,1594%, respectivamente. El riesgo fue considerado bajo, ya que los HQ obtenidos fueron inferiores al 100%. A pesar de ello, se destaca la importancia de prestar especial atención a los consumidores que frecuentan productos de huevo de pato preparados para el consumo, especialmente con el crecimiento del comercio electrónico en China. El método analítico empleado podría ser valioso para la detección de múltiples residuos de antibióticos en huevos de pato listos para el consumo, y las evaluaciones del riesgo dietético de los antibióticos de riesgo respaldan la necesidad de programas de vigilancia para garantizar la inocuidad alimentaria de estos productos.

Moreno Veloz & Kuffó García, (2020) llevaron a cabo un estudio con el objetivo de detectar la presencia de *Salmonella* en huevos frescos de gallina comercializados en la ciudad de Guayaquil. Se estableció un protocolo de análisis que incluyó procedimientos para la recolección, aislamiento, identificación y tipificación de *Salmonella spp.* Se seleccionaron 16 puntos de muestreo en mercados privados y municipales en los diferentes sectores de la ciudad, obteniéndose un total de 980 cubetas de huevos. Cada huevo presentó un peso promedio de 61.4 gramos y un tamaño promedio de 5.6 cm. Se observó que el 34% de los huevos mostraban presencia de tierra, el 26% de heces fecales, el 23%



de restos de plumaje de aves y el 17% de manchas de sangre. Se realizó un análisis minucioso tanto en la parte externa como interna de los huevos, mediante la siembra en agua peptonada buferada y su posterior incubación a 37 °C durante 18–24± 2 h, seguido de pruebas bioquímicas. En todas las muestras analizadas se determinó la ausencia total de *Salmonella*. Como recomendación, se sugiere llevar a cabo investigaciones adicionales en otros puntos de la ciudad de Guayaquil, priorizando centros de producción de huevos y durante el transporte de los mismos.

Juez García et al. (2020) llevaron a cabo un estudio para evaluar la diversidad de serotipos y el nivel de resistencia a nueve antibióticos en una colección de aislados de *Salmonella* recolectados a lo largo de once años (2007-2017) como parte del programa de vigilancia en huevos de supermercado en la Comunidad de Madrid. Durante este periodo, se identificaron 243 aislados pertenecientes a 23 serotipos diferentes, siendo Enteritidis, Infantis, Rissen, Anatum y Typhimurium responsables del 80% de los aislamientos. Enteritidis fue el serotipo más común, representando el 41% de los casos. Los niveles de resistencia se mantuvieron por debajo del 10%, excepto para la ciprofloxacina, el ácido nalidíxico, la tetraciclina y la ampicilina, que mostraron variaciones según el serotipo. Alrededor del 41% de las cepas fueron susceptibles a todos los antibióticos evaluados, mientras que aproximadamente el 8% se clasificaron como multirresistentes (resistentes a  $\geq 3$  familias de antibióticos). A pesar de los niveles generalmente bajos de resistencia, se observaron excepciones, como la resistencia a quinolonas o la presencia en cepas de *S. Rissen*. Estos hallazgos resaltan la importancia de los programas de vigilancia y la utilidad de comparar datos obtenidos en alimentos con los encontrados en animales y casos clínicos en



humanos para evaluar la evolución temporal de serotipos y resistencias en *Salmonella*.

### **2.1.2. Antecedentes nacionales**

Albujar (2015) detectó residuos de antibióticos en hígados de pollo vendidos en el Mercado Modelo de Piura, utilizando el método microbiológico de las tres placas para examinar residuos de tetraciclina, sulfametoxazol/trimetoprim y gentamicina. Los resultados revelaron la presencia positiva de residuos en todas las muestras analizadas. Esta detección plantea preocupaciones sobre el uso adecuado de antibióticos en la industria avícola y resalta la importancia de monitorear y regular la presencia de estos residuos para salvaguardar la salud pública y garantizar la seguridad alimentaria.

Maekawa (2008) su estudio evaluó el efecto conjunto de dosis y formas de administración de oxitetraciclina en la presencia de residuos en huevos, tanto durante como después del tratamiento. Se utilizaron 20 gallinas, divididas en cinco tratamientos con distintas dosis y vías de administración. Se observaron diferencias significativas en la presencia de residuos desde el tercer día de dosificación hasta el cuarto día del periodo de retiro. El Tratamiento D destacó por mostrar residuos con mayores halos de inhibición y una persistencia más prolongada. Estos resultados ofrecen información valiosa sobre la dinámica de los residuos de oxitetraciclina en huevos, crucial para la gestión adecuada de este antibiótico en aves de postura.

Caller (2019) llevó a cabo una investigación con el objetivo de detectar los residuos de Enrofloxacin en la producción avícola localizada en la zona. Utilizando la técnica de ELISA, se analizaron muestras de músculos de la pechuga



de pollos procedentes de tres mercados en la ciudad: José Aldamiz, Tres de Mayo y Mercado Modelo, evaluándose un total de 45 muestras. Los resultados mostraron concentraciones de Enrofloxacin de  $0,89 \mu\text{g}/\text{kg} \pm 0,0067$ ,  $0,91 \mu\text{g}/\text{kg} \pm 0,0046$  y  $0,92 \mu\text{g}/\text{kg} \pm 0,0044$ , respectivamente. En términos porcentuales, la concentración más alta de residuos se encontró en el Mercado Modelo (33,84%), seguido por Tres de Mayo (33,44%) y José Aldamiz (32,72%). El análisis de varianza reveló una diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre las medias del Mercado Modelo y los otros mercados, aunque no se observaron diferencias significativas entre Tres de Mayo y José Aldamiz. En conclusión, las muestras evaluadas presentaron en promedio concentraciones mínimas del antibiótico ( $0,9109 \pm 0,0088$ ) que no excedieron los límites establecidos en la Norma Sanitaria. Se recomienda realizar investigaciones adicionales sobre residuos de otros antibióticos, especialmente en canales de aves y en otras especies de consumo masivo, utilizando una variedad de técnicas de laboratorio.

## 2.2. MARCO TEÓRICO

### 2.2.1. Generalidades de la Gallina (*Gallus gallus*)

Originaria de la región este de la India, Indochina, Java, Sumatra, Borneo, Filipinas, Sonda, Cébeles, Joló, entre otros lugares. Su desarrollo se remonta a la India antes del último período glacial, y fue domesticada, siendo posteriormente llevada por comerciantes hacia Asia, Arabia y Europa, donde se originaron las razas mediterráneas, ligeras o bankivoides. Hay indicios de que su domesticación tuvo lugar por primera vez en China, dando origen a las primeras razas de gallinas hace aproximadamente 7000 años (Pedraglio, 2007).



### 2.2.2. Clasificación biológica de la gallina

- Reino: Animal
- Clase: Aves
- Orden: Galliformes
- Familia: Faisanidos
- Género: *Gallus*
- Especie: *Domesticus* (Pedraglio, 2007).

### 2.2.3. Huevo de gallina

El huevo, considerado como uno de los pilares fundamentales en la alimentación humana, se destaca no solo por su delicioso sabor, sino también por sus innumerables ventajas para la salud y su capacidad de fácil digestión (Fernández-Martín et al., 2017).

El huevo emerge como la proteína más asequible y apreciada por los habitantes de Perú, quienes registraron un consumo promedio de 243 unidades por persona en el año 2021, consolidándose como una elección alimentaria primordial en el país. Este notable nivel de ingesta llevó a que Perú ocupara el quinto puesto en consumo de huevos en toda Latinoamérica en 2019, según los informes proporcionados por el Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego.

La producción global de huevos de gallina alcanzó la impresionante cifra de 86.67 millones de toneladas. China se posiciona como el principal productor a nivel mundial, contribuyendo con 29.82 millones de toneladas, lo que representa el 34.4% de la producción global. Le siguen Estados Unidos e India, con participaciones del 7.6% y 7.2%, respectivamente (FAOSTAT, 2020).



#### **2.2.4. Contenido nutricional del huevo de gallina**

El huevo se presenta como una fuente nutricional significativa para el organismo, especialmente en lo que respecta a proteínas, lípidos, minerales y vitaminas de alta calidad. Destacan los contenidos de proteínas (11,0-13,8%), lípidos (8,5–12,0%) y agua (74,4-88,7%) (Sharaf Eddin et al., 2019).

La calidad biológica de las proteínas, ricas en aminoácidos esenciales, es un factor crucial para la salud muscular en individuos de todas las edades. Tanto atletas que buscan mejorar su rendimiento físico como adultos mayores enfrentando el desafío del envejecimiento se benefician de esta propiedad de las proteínas. Para los atletas, una ingesta adecuada de proteínas de alta calidad es fundamental para la reparación y el crecimiento muscular después del ejercicio intenso. Por otro lado, en adultos mayores, la calidad de las proteínas es esencial para contrarrestar la sarcopenia, la pérdida de masa muscular asociada al envejecimiento, ayudando así a mantener la salud y la funcionalidad muscular (Lesniewski & Stangierski, 2018).

Entre las proteínas presentes en la clara se encuentran principalmente ovoalbúmina, ovotransferrina y ovomucoide, así como lisozima, avidina y ovomucina (Sharaf Eddin et al., 2019). Este perfil nutricional del huevo sugiere su potencial impacto positivo en la salud pública, al ofrecer beneficios específicos para la salud muscular, especialmente en segmentos de la población como los adultos mayores.



**Tabla 1**

*Composición química del huevo*

Nutriente	Huevo entero	Clara	Yema
Agua (g)	37.66	29.32	8.10
K calorías (g)	74.5	16.7	59.42
Proteínas (g)	6.24	3.51	2.78
Lípidos totales (g)	5.01	-	5.12
Ácidos grasos como TAG (g)	4.32	-	4.42
AGS (g)	1.55	-	1.58
AGM (g)	1.90	-	1.94
AGP (g)	0.68	-	0.69
Colesterol (mg)	212.5	-	212.64
Lecitina (g)	1.15	-	1.11
Vitaminas			
A (UI)	317.5	-	322.8
D (UI)	24.5	-	24.5
E (mg)	0.52	-	0.52
B12 (mcg)	0.5	0.067	0.51
B1 Tiamina (mg)	0.031	0.002	0.028
B2 Riboflavina (mg)	0.254	0.151	0.10
B3 Niacina (mg)	0.03	0.031	0.002
B5 Ac. Pantoténico. (mg)	0.627	0.04	0.63
B6 Piridoxina (mg)	0.070	0.001	0.06
B9 Folato (mcg)	23.5	1.002	24.23
Biotina (mg)	9.98	2.34	7.58
Colina (mg)	215.06	0.42	215.97
Minerales			
Calcio (mg)	24.5	2.004	22.74
Hierro (mg)	0.72	0.01	0.58
Magnesio (mg)	5	3.67	1.49
Fósforo (mg)	89	4.34	81
Potasio (mg)	60.5	47.76	15.6
Selenio (mcg)	15.4	5.87	7.50
Sodio (mg)	63	54.77	7.13
Zinc (mg)	0.55	0.003	0.51

Fuente: (Cortés, 2015)



### 2.2.5. Antibióticos en la industria avícola

La actual y previsible prevalencia del sistema intensivo de producción avícola ha precipitado la propagación expedita de enfermedades entre las poblaciones avícolas en los gallineros. Estos, sometidos a densidades ganaderas elevadas, generan un entorno propicio para la infestación y transmisión de parásitos y virus. Entre las patologías frecuentes en la gestión avícola se incluyen la enfermedad de Gumboro, la enfermedad de Newcastle, la infección por E. coli, la tifoidea y la coccidiosis. Un estudio de evaluación de pérdidas económicas a causa de enfermedades en aves de corral revela que estas tienen un impacto considerable en el desarrollo de la producción avícola debido a las pérdidas financieras derivadas de una tasa de mortalidad aviar elevada. En consecuencia, se introducen antibióticos como medida preventiva y terapéutica (Bera et al., 2010).

Se han informado acerca del uso de alrededor de 35 agentes antibióticos en la gestión de enfermedades aviarias. Estos comprenden diversas clases de antibióticos administrados a animales destinados a la producción de alimentos, incluyendo lactamos (penicilina y cefalosporinas), tetraciclinas, cloranfenicoles, macrólidos, espectinomina, lincosamida, sulfonamidas, nitrofuranos, nitroimidazoles, trimetoprim, polimixinas, quinolonas y macrocíclicos (ansamicinas, glicopéptidos y aminoglucósidos) (VE & C, 2016).

Los antibióticos se emplean en la salud animal con tres objetivos claramente definidos: en primer lugar, con propósitos terapéuticos, para tratar infecciones documentadas; en segundo lugar, con objetivos profilácticos, únicamente cuando se demuestra su importancia para prevenir infecciones, por



ejemplo, en las fases iniciales de crecimiento de animales particularmente susceptibles a agentes infecciosos específicos; y en tercer lugar, como promotores del crecimiento, facilitando el control de la flora bacteriana del animal para lograr un mejor aprovechamiento de los nutrientes y un sustancial aumento de peso (Ibrahim et al., 2020).

Frecuentemente, se inicia un tratamiento de manera empírica cuando se sospecha una infección y se percibe la urgencia de intervenir. Es esencial llevar a cabo los análisis necesarios antes de iniciar el tratamiento, cuando sea posible, para evaluar más tarde la efectividad de los antibióticos empleados. Con el objetivo de mejorar la eficacia del tratamiento y reducir los posibles efectos adversos en la flora intestinal, se prefiere el uso de antibióticos de espectro reducido (Albújar Canova, 2015).

El equilibrio de la flora animal puede ser regulado mediante el uso de promotores de crecimiento antibióticos. Esto resulta en una optimización de la absorción de nutrientes y un incremento considerable en el peso corporal, específicamente cuando un aditivo se incorpora a la dieta en concentraciones inferiores a las consideradas terapéuticas, y durante un período de tiempo excepcionalmente extenso (Cancho B., Garcia M. & Sima, J., 2000).

#### **2.2.6. Relevancia de regular la administración de antibióticos en la producción avícola.**

Cuando se administran antibióticos a pollos, estos se transmiten de los progenitores a los polluelos a través de la transmisión vertical. A medida que los pollitos crecen, la concentración de antibióticos en su organismo disminuye gradualmente al ser excretados en las heces, lo que contribuye a la contaminación



del criadero con trazas de antibióticos presentes en las superficies como paredes, comederos y bebederos. Además de estar en los huevos, se pueden hallar residuos de antibióticos en las cáscaras de estos, especialmente cuando sustancias como la enrofloxacina y la doxiciclina se unen a metales divalentes como el calcio. Dado que la cáscara de huevo a menudo se utiliza como fuente de calcio en la dieta de los polluelos, esto se convierte en otra fuente potencial de contaminación (Jansen et al., 2020).

Después de la administración del medicamento, es necesario desechar los huevos durante el período de abstinencia y hasta que la concentración del fármaco sea segura. Por ejemplo, al suministrar dosis de 300 mg L<sup>-1</sup> de tilmicosina durante 5 días, las gallinas tratadas produjeron huevos con rastros del fármaco hasta 49 días después de finalizar el tratamiento. Los productores deben seguir las indicaciones del fabricante del medicamento para establecer el período de abstinencia adecuado; sin embargo, existe un mayor riesgo de uso incorrecto en granjas pequeñas, lo que podría resultar en la presencia de altas concentraciones de antibióticos en los huevos consumidos (Ji et al., 2019).

### **2.2.7. Metabolismo y excreción de los antibióticos**

La conjunción de los procesos de metabolismo y excreción se fusiona para lograr la eliminación completa e irreversible de los fármacos. Durante la fase de biotransformación o metabolismo de los medicamentos, el compuesto original experimenta cambios químicos que lo convierten en metabolitos más propensos a la excreción. En su mayoría, las enzimas hepáticas descomponen los fármacos durante este proceso. La excreción de los medicamentos implica la eliminación tanto del fármaco en sí como de sus metabolitos. Además de la orina, hay otros



métodos de expulsión que incluyen la bilirrubina, la saliva, la leche e incluso la respiración. A pesar de que varios órganos pueden metabolizar sustancias químicas, el hígado destaca como el órgano principal encargado del metabolismo de los fármacos (Albújar Canova, 2015).

#### **2.2.7.1. Biotransformación hepática**

A pesar de que diversos tejidos poseen la capacidad de experimentar biotransformación, los procesos enzimáticos hepáticos predominan en la transformación bioquímica de los fármacos. Los medicamentos con una mayor afinidad por lo lipofílico tienden a ingresar con mayor facilidad al entorno intracelular, donde ocurre la biotransformación. En esencia, la transformación metabólica representa el mecanismo mediante el cual el cuerpo asegura que una molécula pueda ser eliminada, logrando esto al incrementar su polaridad. Como resultado común, se produce la síntesis de metabolitos más polares (hidrofílicos) en comparación con el compuesto original, facilitando así su eliminación a través de la excreción renal o biliar (Albújar Canova, 2015).

#### **2.2.7.2. Excreción biliar**

Los hepatocitos de manera constante producen y almacenan bilirrubina, un subproducto derivado del proceso de excreción hepática, en la vesícula biliar. Para ciertos fármacos y metabolitos caracterizados por ser polares y tener un peso molecular elevado, la ruta primordial de excreción se encuentra en el sistema biliar. Estos compuestos, al ser eliminados por esta vía, muestran propiedades polares que dificultan su fácil reabsorción desde el tracto biliar o el intestino. Las sustancias



químicas excretadas por el tracto biliar suelen ser expulsadas a través de las heces. De manera general, se destaca la marcada capacidad de excreción biliar observada en las aves (Albújar Canova, 2015).

#### **2.2.8. Importancia en la salud pública**

Los medicamentos utilizados para restaurar la salud de las aves, como los antibióticos, tienen la posibilidad de permanecer en el cuerpo de los animales, incluso pudiendo detectarse en los huevos. Esta situación plantea una preocupación para la salud humana y constituye un desafío para garantizar la Seguridad Alimentaria (Owusu-Doubreh et al., 2023).

Existe la probabilidad de que restos de medicamentos y sus metabolitos terminen en alimentos provenientes de animales destinados al consumo humano, lo que podría ocasionar problemas como resistencia bacteriana, aumento de la virulencia, reacciones inmunopatológicas e incluso alteraciones en el microbiota intestinal (Cancho B., Garcia M & Sima, J., 2000).

#### **2.2.9. Residuos de antibióticos en huevos de gallina**

Investigaciones han evidenciado la presencia de agentes antibióticos en huevos de comercialización, destacando los compuestos más frecuentes que plantean un posible riesgo para la salud de los consumidores y necesitan un control más riguroso.

#### **2.2.10. Resistencia bacteriana**

En la actualidad, nos enfrentamos a un desafío global en salud pública: la resistencia a los agentes antibióticos, cuyo impacto abarca tanto la salud humana y animal (Martínez-Martínez & Calvo, 2010). La resistencia implica la capacidad de



un microorganismo para resistir los efectos de un antibiótico al cual antes era vulnerable. La resistencia a los agentes microbianos surge debido a procesos naturales de selección y mutaciones genéticas, necesitando una exposición continua del microorganismo al antibiótico para su desarrollo. Esta exposición debe ocurrir a una concentración del antibiótico que permita la supervivencia del microorganismo, y los mecanismos subyacentes pueden ser de índole genética o bioquímica.

A pesar de que los huevos contienen proteínas con propiedades antibacterianas, es bastante común que se produzca contaminación por el contacto con heces de gallina durante la puesta, principalmente debido a condiciones de almacenamiento deficientes o incluso en los ovarios de gallinas que están contaminadas. Cuando hay una abundancia de microorganismos, puede dar lugar a la formación de biopelículas bacterianas que se adhieren a la cáscara del huevo. Estas biopelículas pueden presentar grietas que facilitan la contaminación del contenido interno del huevo (Syed et al., 2019).

(Palma et al., 2020) proponen una serie de estrategias para prevenir la resistencia a los antibióticos, que abarcan:

- Uso prudente y gestión adecuada de los antibióticos.
- Implementación de programas efectivos de inmunización.
- Aplicación de prebióticos y/o probióticos para intervenir directamente en la flora bacteriana, mejorando la eficiencia en la conversión alimenticia y fortaleciendo la competencia contra la colonización de patógenos.
- Utilización de péptidos bioactivos, como la Nisina A, con propiedades bacteriostáticas o bactericidas y producidos de forma natural por bacterias lácticas.



- Introducción de bacterias depredadoras.

Los autores subrayan que estas medidas deben respaldarse con investigación científica continua para ampliar el conocimiento y descubrir nuevas categorías de antibióticos. Además, destacan la importancia de medidas legislativas que salvaguarden y fomenten la salud pública.

### **2.2.11. Métodos para analizar residuos antibacterianos**

Las técnicas de análisis para la detección de residuos de antibióticos en productos de origen animal destinados al consumo humano se dividen en dos categorías: métodos confirmatorios y métodos de cribado. Los métodos confirmatorios permiten la identificación y cuantificación precisa del fármaco presente en la muestra analizada, y su implementación comúnmente involucra técnicas cromatografías, como la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (Escudero, 2006).

En contraste, los métodos de cribado o microbiológicos se consideran cualitativos. En este enfoque, se evalúa la muestra ante la posible contaminación con residuos de antibióticos, provocando una reacción de inhibición del crecimiento frente a 35 microorganismos sensibles. Microorganismos como *Bacillus stearothermophilus* (para muestras de leche), *Bacillus cereus* o *Bacillus subtilis* se utilizan en este método debido a su capacidad para generar halos de inhibición en medios de cultivo. La presencia o ausencia de halos determina la existencia de residuos de antibióticos en la muestra, y esta evaluación puede realizarse de manera visual. Dentro de estos métodos se incluyen ensayos de unión enzimática o inmunológica, así como métodos de cribado en placas. Estos enfoques presentan ventajas sobre los métodos confirmatorios, ya que son más



rápidos, de implementación e interpretación sencilla, y también son más económicos (J. Torres, 2018).

#### **2.2.11.1. Técnica rápida: prueba STOP**

La prueba se lleva a cabo empleando un medio de cultivo agar Mueller-Hinton, una cepa de *Bacillus subtilis* y discos de Neomicina dispuestos en placas de Petri. Un hisopo previamente sumergido en la suspensión de *Bacillus subtilis* se utiliza para sembrar cada placa, mientras que hisopos de algodón estériles se presionan contra el agar al sumergirse en fluidos corporales como hígado, riñones y músculo. Un disco de neomicina se coloca en el centro del cultivo. La placa se incuba a una temperatura entre 25 y 35°C durante 18 a 24 horas, y posteriormente se procede a la lectura de los resultados. La presencia de una zona inhibidora alrededor de los tubos y discos de neomicina, que actúan como controles, indica una respuesta positiva. Para considerarse positiva, el halo de inhibición debe ser superior a 2 mm (Albújar Canova, 2015).

#### **2.2.11.2. Método microbiológico de difusión de las cuatro placas**

Creado alrededor de 1980 por un grupo del Comité Científico Veterinario de la Comisión de la Comunidad Europea (CCE) en colaboración con expertos de nueve Estados miembros, este método representa una técnica microbiológica confiable y precisa. El enfoque propuesto utiliza una prueba de difusión en agar con cuatro placas, incorporando dos microorganismos diferentes: *Bacillus subtilis* y *Micrococcus luteus* (Azañero P. & Chiroque M., 2010).



En esencia, la prueba se basa en métodos microbiológicos previos y la innovación clave radica en una placa que contiene trimetoprima y *Bacillus subtilis* para la detección de residuos de sulfonamida. En términos generales, la prueba de residuos de antibióticos SCC amalgama las pruebas alemanas AH y *Sarcina lutea* (modificada a pH 8), junto con una variante de la prueba existente para sulfonamidas (Azañero P. & Chiroque M., 2010).

Funcionando mediante el cultivo de un microorganismo en agar que es sensible a un antibiótico específico o a grupos de antibióticos presentes en los tejidos animales o en sus productos, este método de cuatro placas permite la identificación de residuos antibióticos. La adaptabilidad del método se evidencia en la posibilidad de modificarlo para abarcar una variedad más amplia de identificaciones, mediante la adición de más antibióticos a una placa. En este proceso, se experimenta con el cultivo en agares de composición y pH diversos, por ejemplo, para las quinolonas, se incorpora *Escherichia coli* como bacteria objetivo y el medio nutritivo se ajusta a un pH de 7,2 (Azareño & Chiroque, 2010).

### **2.2.11.3. Método de cribado de las tres placas**

Este método sobresale por su elevada eficacia en la detección de residuos de tetraciclinas y aminoglucósidos, presentando a su vez una implementación sencilla y un coste económico, lo que facilita el análisis de un extenso número de muestras (Escudero, 2006). Constituye un enfoque microbiológico cualitativo aplicado al tejido muscular esquelético con la finalidad de evidenciar la actividad antibiótica del fármaco presente



en dicho tejido. Para llevar a cabo esta prueba, se emplea tejido muscular con un diámetro reducido (8 mm), el cual se coloca en un medio de cultivo nutritivo sólido dispuesto en una placa Petri que ha sido inoculada con una concentración de células bacterianas sensibles, como *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea* o *E. coli* (Albujar, 2015).

El tamaño del halo de inhibición proporciona información sobre el impacto de la sustancia inhibidora en la muestra, permitiendo la clasificación de los resultados como positivos o negativos (Águila, 2000). En este método, la acidez o alcalinidad del pH en el medio de cultivo desempeña un papel esencial al influir en la acción y difusión del antibiótico. Además, en este procedimiento, las muestras y los discos sensidiscos de los antibióticos sujetos a estudio se ubican en medios de cultivo con tres niveles de pH diferentes (6.0, 7.2, 8.0). Este enfoque se diseñó para identificar una variedad extensa de sustancias antibióticas, ya que el espectro de detección de la sustancia antimicrobiana se amplía según el valor del pH empleado. La acidez o alcalinidad del pH puede obstaculizar el crecimiento de la bacteria sensible utilizada, por lo tanto, la elección cuidadosa del pH resulta crucial (GESCHE & EMILFORK, 1998).



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. UBICACIÓN

Esta investigación se llevó a cabo en los mercados del distrito de Puno, en la provincia y departamento de Puno. Estos mercados específicos incluyeron: Bellavista, Central, Laykakota y Unión Dignidad. Las coordenadas geográficas exactas de la zona de estudio se sitúan en una latitud sur de 15° 49' 20" y una longitud oeste de 70° 01' 07" (SENAMHI, 2022)

El procesamiento de muestras se realizó en el Laboratorio de Microbiología Veterinaria, perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno. Este laboratorio está situado a una altitud de 3823 msnm, en el Distrito de Puno, Provincia de Puno, Departamento de Puno, con coordenadas geográficas de latitud sur 15° 49' 20" y longitud oeste 70° 01' 07" (SENAMHI, 2022).

#### 3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

##### 3.2.1. Población

La población en este estudio consistió en los huevos disponibles para la venta en los mercados del distrito de Puno, específicamente en los mercados Bellavista, Central, Laykakota y Unión Dignidad. El período de recolección de muestras se extendió desde mayo hasta julio del 2023.



### 3.2.2. Muestra

El tamaño de muestra se determinó aplicando la siguiente fórmula estadística, (Albujar, 2015):

$$n = \frac{Z^2 pq}{B^2}$$

Donde:

n= Número de muestras

Z= 1 ,96 para el 95% de confianza

p= Frecuencia esperada del factor a estudiar

q= 1- p

B= Precisión o error admitido

Al no existir trabajos de investigación se estableció la prevalencia del 50% con un margen de error de 7%.

p=0,5

q= 0.5

B= 0,07

$$n = \frac{(1,96)^2 (0,5)(0,5)}{0,07^2}$$

$$n = \frac{(3,8416)(0,25)}{0,0049}$$

*n = 196 muestras*



Se adquirió 49 huevos por semana durante un período de 4 semanas, totalizando así 196 muestras.

**Tabla 2**

*Distribución de muestras por mercado*

Mercado	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	
Bellavista	13	12	12	12	49
Central	12	13	12	12	49
Laykakota	12	12	13	12	49
Unión y Dignidad	12	12	12	13	49
Total	49	49	49	49	196

Fuente: Elaboración propia

### 3.3. MATERIALES

#### 3.3.1. Materiales para toma de muestras

- Guantes de látex descartable
- Maples para huevos
- Plumón indeleble negro
- Frascos estériles
- Jabón líquido
- Cuaderno de registro

#### 3.3.2. Materiales biológicos

- Cepa de *Bacillus subtilis*
- Huevos de gallina



### 3.3.3. Materiales de laboratorio

- Jeringas hipodérmicas descartables de 5 y 10 ml de capacidad
- Alcohol al 96% de pureza
- Fósforos
- Algodón hidrófilo estéril de 100 gramos
- Mandil blanco
- Regla milimétrica de 30 cm
- Sacabocados de plástico de 8 mm
- Agua destilada
- Guantes de látex descartables estériles
- Mascarilla descartable
- Matraz Erlenmeyer de vidrio de 100 ml de capacidad
- Mechero de alcohol
- Probetas de vidrio de 50 ml de capacidad
- Asa de siembra de Kolle
- Pinzas estériles de metal
- Hisopos de algodón estériles
- Medios de cultivo
- Agar Müller-Hinton
- Agua sangre
- Discos comerciales BBL 1M de oxitetraciclina concentración de 30 ug
- Discos comerciales BBL 1M de florfenicol concentración de 30 ug
- Discos comerciales BBL 1M de eritromicina concentración de 30 ug



### **3.3.4. Medio de Cultivo**

- Agar Müller-Hinton

### **3.3.5. Equipos**

- Balanza digital de la marca Mettler, con una capacidad que va desde 0,1 mg hasta 160 mg
- Cocina eléctrica de la marca RotableRangin, con una potencia de 825 watts y equipada con dos hornillas
- Refrigeradora de la marca Faeda
- Incubadora eléctrica de la marca Memmert
- Autoclave de la marca All American, un esterilizador de vapor a presión eléctrico

## **3.4. METODOLOGÍA**

### **3.4.1. Preparación de agar Müller Hinton**

- El agar Mueller-Hinton, utilizado como medio de cultivo, fue preparado un día antes de su uso y almacenado en refrigeración. La composición de este medio incluye 3,45 gramos de peptona de carne, 3,45 gramos de peptona de caseína, 5,10 gramos de cloruro de sodio y 13,00 gramos de agar.
- Se pesaron 2,25 gramos del medio, los cuales se mezclaron con 100 mililitros de agua destilada. Luego, se calentó la solución y se agitó suavemente hasta que el medio se disolviera por completo.
- Luego, el agar fue sometido a autoclave a una temperatura de 121°C y una presión de 15 libras durante 15 minutos.



- Después del proceso de autoclave, se permitió que el agar se enfriara hasta alcanzar aproximadamente los 50°C. Se procedió a verificar el pH con un potenciómetro a temperatura ambiente y, en caso necesario, se ajustó utilizando hidróxido de sodio o ácido clorhídrico para alcanzar un pH de 7.
- En cada placa Petri de vidrio se vertieron 15 ml de agar, buscando lograr un espesor promedio de 4 mm, conforme a las directrices del INS (2002).
- Para llevar a cabo las pruebas de esterilidad, las placas se colocaron en una estufa de incubación a una temperatura de 37°C durante 24 horas. Aquellas que mostraron evidencia de contaminación fueron descartadas.
- Siguiendo la investigación de Rojas et al. (2005), se recomienda la aplicación del método modificado de pozos en agar para realizar ensayos de actividad antimicrobiana, dado su alto nivel de sensibilidad.

#### **3.4.2. Preparación del inóculo *Bacillus subtilis***

- Utilizando el asa de siembra, se seleccionaron colonias aisladas de *Bacillus subtilis* con morfología similar, previamente sembradas en agar sangre.
- Estas colonias se trasladaron a tubos que contenían entre 4 y 5 mililitros de caldo Tripticasa de Soya (TSA) y se colocaron en incubación a una temperatura que oscilaba entre 35°C y 37°C en la estufa, hasta que alcanzaron o superaron una turbidez equivalente a 0.5 en la escala de Mc Farland.
- La turbidez del inóculo fue ajustada utilizando solución salina o caldo TSA, y se llevó a cabo una comparación visual con el estándar 0.5 de la escala de Mc Farland. Este proceso se realizó bajo una iluminación adecuada, observando los tubos contra un fondo blanco con líneas negras como contraste.



### 3.4.3. Distribución de agar en placas Petri

- Una vez completada la esterilización, los medios de cultivo se enfriaron a 45 °C y se vertieron en placas Petri de 9 cm de diámetro a una velocidad de 12,5 ml, logrando una altura de 2 mm. Este procedimiento se realizó con el mechero encendido para asegurar un ambiente estéril que se obtiene por la llama que emite. Las placas servidas fueron mantenidas a temperatura ambiente hasta la gelificación del agar, luego se almacenaron en refrigeración a 4°C hasta por una semana (Gesche, 1986).

### 3.4.4. Sembrado de placas

- Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez, hisopos estériles fueron sumergidos en los tubos con inóculos de *Bacillus subtilis* durante 30-45 minutos para lograr una saturación adecuada.
- La cepa se sembró en placas de Müller Hinton, realizando estrías con el hisopo embebido en 3 direcciones diferentes para cubrir toda la superficie del agar. Se permitió reposar durante 3 a 5 minutos para permitir que cualquier exceso de humedad superficial fuera absorbido (INS, 2002). Esto representa la inoculación de la muestra (hisopos).
- Para el control, se utilizaron sensidiscos comerciales que contenían oxitetraciclina, florfenicol y eritromicina, como antibiótico. Estos sensidiscos se colocaron en el medio de cultivo utilizando pinzas estériles.
- Se introdujeron 2 hisopos en cada tubo que contendría el sobrenadante de la muestra, y se dejaron durante 30-45 minutos para lograr una saturación adecuada. Estas muestras, previamente almacenadas en congelación, fueron retiradas hasta alcanzar la temperatura ambiente para su posterior uso.



- Después, los hisopos fueron retirados con una pinza estéril, cortados y dispuestos en las placas ya sembradas con *Bacillus subtilis* (ATCC 6633). Se ejerció una ligera presión para asegurar su adhesión al agar, luego se procedió a incubar a una temperatura de 37°C durante un período de 18 a 24 horas.

#### **3.4.5. Técnica de Sacabocado**

- Se realizó este procedimiento con el instrumento circular, afilado y hueco llamado sacabocado que se esterilizó con fuego, para así extraer 7 porciones redondas de 8 mm de diámetro del sembrado que está en cada placa Petri, dejando 7 hoyos para cultivar las muestras.

#### **3.4.6. Preparación de muestras**

- Los 196 huevos debidamente identificados se retiraron del refrigerador y fueron sometidos a temperatura ambiente, la clara y yema de los huevos fueron introducidos en frascos estériles y homogenizados por 3 minutos.

#### **3.4.7. Cultivo de muestras**

- De cada muestra ya homogenizada se extrajo 100 µL, con ayuda de jeringas de tuberculinas se colocaron los 100 µL a los hoyos que se realizó con el sacabocado y para evitar la contaminación estarán expuestos a fuego directo de un mechero para mantener el procedimiento estéril.
- Finalmente se incubaron a 30°C por 24 horas.

#### **3.4.8. Lectura de resultados**

- La lectura de los resultados se llevó a cabo después de 18 a 24 horas de incubación. Se identificó la presencia de residuos de antibióticos



(oxitetraciclina, florfenicol y eritromicina) en las muestras de huevo mediante la observación de zonas claras de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor del hisopo. Para una visualización y medición precisa, se empleó un fondo negro y una iluminación adecuada.

- La interpretación de los resultados se basó en el tamaño del halo de inhibición del crecimiento bacteriano, utilizando una regla Vernier digital. El tamaño se determinó desde el borde del tejido hasta el inicio del crecimiento bacteriano. Se consideró positiva una muestra con un halo claro y total de inhibición del crecimiento bacteriano superior a 2 mm. Se clasificó como negativa una muestra con una inhibición del crecimiento bacteriano inferior a 1 mm. Aquellas muestras con una inhibición del crecimiento bacteriano de 1 a 2 mm se catalogaron como sospechosas (Gesche, 1986).

### 3.5. DISEÑO ESTADÍSTICO

El diseño consiste en evaluar cada unidad experimental con 3 resultados posibles cada sustancia (positivo, dudoso o negativo).

El estudio es de tipo descriptiva. Para analizar los resultados se utilizaron indicadores estadísticos como el porcentaje de presencia y frecuencia como medida de tendencia central y el intervalo de confianza como medida de dispersión para comparar los datos.

El porcentaje de la presencia de antibióticos representado por la letra P se calculó con la siguiente fórmula: (Jaramillo y Martínez, 2010)

$$P = \frac{N \text{ de huevos positivos} \times 100}{N \text{ de huevos inspeccionados}}$$



Para el intervalo de confianza (IC) se utilizó la siguiente fórmula: (Jaramillo y Martínez, 2010)

$$IC = P \pm Z\sqrt{p * q/n}$$

Donde:

P = porcentaje de presencia obtenido                      Z = 1.96                      q = 1-p

n = número de muestras.

Se implementó la prueba de Chi-cuadrado para evaluar estadísticamente la presencia de antibióticos en huevos provenientes de distintos mercados. La variable dependiente, clasificada en negativo, positivo y dudoso, reflejó la presencia de antibióticos en los huevos. En cuanto a la variable independiente, esta correspondió al mercado de origen de los huevos, específicamente Bellavista, Central, Laykakota y Unión Dignidad. Las hipótesis nula y alternativa son las siguientes: H0: No hay diferencia significativa en la presencia de antibióticos entre los huevos de diferentes mercados. H1: Existe una diferencia significativa en la presencia de antibióticos entre los huevos de diferentes mercados.



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. DETECCIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN MUESTRAS DE HUEVOS DE GALLINA

Tras la evaluación de muestras de huevos de gallina en los mercados de Puno utilizando la técnica microbiológica de tres placas para la detección de residuos antibióticos (oxitetraciclina, florfenicol y eritromicina), se presentan los resultados obtenidos en la investigación.

**Tabla 3**

*Porcentaje de huevos de gallina de los mercados de la ciudad de Puno que resultaron positivos, dudosos y negativos a la prueba de detección de residuos de antibióticos*

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válido	negativo	86	43.88
	positivo	69	35.20
	dudoso	41	20.92
Total	196	100.0	100.0

Fuente: Elaboración propia.

La investigación reveló que un total de 69 muestras de huevos de gallina, equivalentes al 35.20%, fueron clasificadas como positivas, mostrando la presencia de residuos de antibióticos. Este hallazgo se alinea con el estudio de Ben et al. (2022), que identificó múltiples antibióticos en más del 30% de los huevos analizados, subrayando la preocupación por la seguridad alimentaria y la necesidad de abordar este problema.

La presencia de residuos de antibióticos en los huevos de gallina se relaciona estrechamente con las prácticas agrícolas. Wang et al. (2011) advierten sobre el uso



generalizado de antibióticos en la avicultura, lo que puede conducir a la acumulación de estos residuos en el entorno agrícola y afectar la calidad de los huevos de gallina.

Smith y Jones (2019) exploran cómo el ciclo de contaminación de antibióticos a través de los alimentos para aves y los fertilizantes agrícolas afecta la cadena alimentaria, incluyendo los huevos de gallina. Su investigación destaca que el uso indiscriminado de antibióticos en la avicultura y la práctica común de utilizar excrementos de aves como fertilizante agrícola son factores significativos en la contaminación de los cultivos, lo que influye directamente en la calidad de los huevos.

Por último, el uso de excrementos de ganado como fuente de fertilizante agrícola contribuye a la presencia de residuos de antibióticos en los cultivos utilizados en la alimentación de las aves y, por ende, en los huevos de gallina. Juez García et al. (2020) encontraron una correlación significativa entre el uso de estos excrementos como fertilizante y la presencia de antibióticos en los cultivos, resaltando la importancia de abordar esta vía de contaminación en la producción de huevos de gallina.

La detección de residuos de antibióticos en los huevos de gallina, como la oxitetraciclina, el florfenicol y la eritromicina, se atribuye tanto a la farmacología de estos compuestos como a las prácticas específicas en la avicultura. Cada uno de estos antibióticos se administra de manera distinta en las aves y se distribuye en sus tejidos, incluyendo los ovarios, lo que contribuye a la presencia de residuos en los huevos de gallina. Nuestro estudio, que reveló un porcentaje significativo de muestras positivas del 35.20%, subraya la relevancia de comprender estos procesos para garantizar la seguridad alimentaria.

Por ejemplo, la oxitetraciclina, un antibiótico de amplio espectro, se administra comúnmente a las aves a través del agua de bebida (Carballo et al., 2019). Tras la



ingestión, este compuesto es absorbido en el tracto gastrointestinal y alcanza concentraciones terapéuticas en los tejidos, incluyendo los ovarios de las aves. Su mecanismo de acción involucra la inhibición de la síntesis de proteínas en bacterias sensibles, pero también puede conducir a la formación de residuos en los tejidos aviares y, eventualmente, en los huevos.

Por otro lado, el florfenicol, un antibiótico de amplio espectro similar al cloranfenicol, se administra típicamente a través de la alimentación de las aves (Liu et al., 2018). Después de la ingestión, este antibiótico es absorbido en el tracto gastrointestinal y se distribuye en los tejidos, incluyendo los ovarios, donde puede acumularse en concentraciones detectables en los huevos. Su mecanismo de acción implica la inhibición de la síntesis de proteínas bacterianas, pero su uso inadecuado puede dar lugar a la formación de residuos en los huevos de gallina.

Asimismo, la eritromicina, un antibiótico macrólido, se administra a las aves a través de su alimentación (Du et al., 2020). Una vez ingerido, este compuesto es absorbido en el tracto gastrointestinal y se distribuye en los tejidos, incluyendo los ovarios, donde puede ser incorporado en los huevos en desarrollo. Su mecanismo de acción también implica la inhibición de la síntesis de proteínas bacterianas, pero su uso indiscriminado puede resultar en la formación de residuos en los huevos de gallina.

Los estudios de Yang et al. (2018), Zhang et al. (2021) y Wu et al. (2019) agregan una perspectiva adicional a nuestra comprensión de la farmacocinética de estos antibióticos en aves de corral y su relación con la presencia de residuos en los huevos. Por ejemplo, Yang et al. (2018) señalan cómo la edad de las aves puede influir en la concentración de residuos de florfenicol en los huevos, mientras que Zhang et al. (2021) y Wu et al. (2019) destacan la importancia de considerar factores como la administración



a largo plazo y la composición de la dieta en la farmacocinética de la oxitetraciclina y la eritromicina, respectivamente. Estos hallazgos subrayan la complejidad del problema y la necesidad de abordarlo de manera integral para garantizar la seguridad alimentaria.

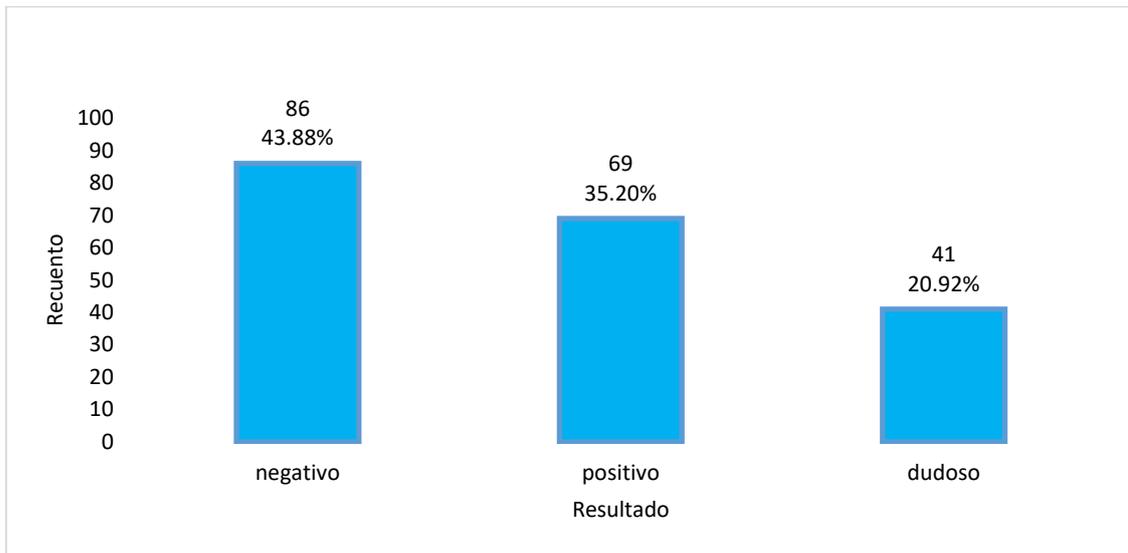
Los resultados de nuestro estudio revelan que un 20.92% de las muestras fueron clasificadas como sospechosas, mientras que un 43.88% arrojaron resultados negativos en cuanto a la presencia de residuos de antibióticos en los huevos de gallina. Esta diversidad en los hallazgos resalta la complejidad de detectar residuos en productos avícolas y subraya la importancia de abordar tanto las muestras sospechosas como las negativas para una evaluación completa de la seguridad alimentaria, especialmente en el contexto de la inocuidad de los huevos.

Estos resultados se alinean con investigaciones previas. Por ejemplo, el estudio realizado por Li et al. (2017) también encontró una variabilidad significativa en los resultados de detección de residuos de antibióticos en productos avícolas, lo que subraya la necesidad de una vigilancia continua. Del mismo modo, el trabajo de Wang et al. (2019) destaca la importancia de analizar muestras tanto sospechosas como negativas para comprender mejor la prevalencia y distribución de estos residuos en los huevos de gallina, resaltando la relevancia de abordar estas muestras en la evaluación de la seguridad alimentaria.

La atención a las muestras negativas y sospechosas en la evaluación de la seguridad alimentaria ha sido enfatizada por diversos expertos. Por ejemplo, García et al. (2018) subrayan que la ausencia de residuos detectables no garantiza necesariamente la inocuidad, ya que otros factores pueden influir en los resultados de detección, lo que destaca la importancia de una evaluación exhaustiva y continua de las muestras.

## Figura 1

### *Huevos de gallina positivos, negativos y dudosos a residuos de antibióticos*



Fuente: Elaboración propia.

La aplicación de un intervalo de confianza a los resultados positivos y dudosos sugiere una diferencia estadística significativa entre ambos. Según la investigación de Merino (2006), quien empleó el método de las tres placas en el análisis, se obtuvo un porcentaje del 60.83% en resultados positivos. Este valor resulta estadísticamente superior al hallazgo del presente estudio, que registra un 35.20%. La posible explicación de esta disparidad radica en el cumplimiento por parte las aves de los períodos designados para el retiro de estas sustancias.

Este aspecto resalta la importancia de considerar no solo la presencia de antibióticos en los huevos, sino también las prácticas específicas de manejo y los protocolos de retirada de sustancias en la cría de aves. La variabilidad en estos procedimientos entre estudios puede influir significativamente en los resultados y debe ser tomada en cuenta al interpretar y comparar los datos obtenidos.

## 4.2. DETECCIÓN DE HUEVOS DE GALLINA POSITIVOS EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO

Resultados de huevos de gallina positivos, negativos y dudosos en diferentes mercados de la ciudad de Puno.

**Tabla 4**

*Resultados de huevos de gallina positivos, negativos y dudosos en diferentes mercados de la ciudad de Puno.*

	Mercado							
	Bellavista		Central		Laykakota		Unión dignidad	
	Recuentocolumnas	% de N						
Resultadonegativo	18	36.7%	21	42.9%	20	40.8%	27	55.1%
positivo	19	38.8%	15	30.6%	18	36.7%	17	34.7%
dudoso	12	24.5%	13	26.5%	11	22.4%	5	10.2%
Total	49	100.0%	49	100.0%	49	100.0%	49	100.0%

Fuente: Elaboración propia

La tabla muestra los resultados de pruebas realizadas en cuatro mercados diferentes (Bellavista, Central, Laykakota, Unión Dignidad), dividiendo los resultados en tres categorías: negativo, positivo y dudoso.

### 4.2.1. Positivos

En Bellavista se observó el mayor porcentaje de resultados positivos (38.8%), seguido por Laykakota (36.7%) y Unión Dignidad (34.7%). Central, por su parte, mostró un porcentaje ligeramente menor (30.6%). Estos resultados indican una uniformidad en la presencia de residuos de antibióticos en los



diferentes mercados analizados, sin mostrar una variabilidad significativa entre ellos.

Nuestros resultados sugieren una homogeneidad en la contaminación por residuos de antibióticos en los huevos de gallina de la región estudiada. Este hallazgo se asemeja a investigaciones previas, como la de Gupta et al. (2017) en la India, que encontraron una distribución uniforme de residuos de antibióticos en diferentes mercados locales. Esto podría indicar una aplicación generalizada de prácticas de producción y regulaciones similares en la industria avícola en distintas regiones geográficas.

La importancia de mantener una vigilancia constante y reforzar las regulaciones sobre el uso de antibióticos en la producción avícola se destaca en nuestro estudio, respaldando hallazgos anteriores como los de Wang et al. (2011). Estos autores resaltaron la amenaza que representan los residuos de antibióticos en productos avícolas para la salud humana, enfatizando la necesidad de prevenir la resistencia antimicrobiana y garantizar la seguridad alimentaria a través de una mayor monitorización e investigación en esta área.

A pesar de estos hallazgos consistentes, nuestros resultados contrastan con investigaciones como la de Li et al. (2019) en China, que identificaron variabilidad en la presencia de residuos de antibióticos entre diferentes regiones o tipos de productos avícolas. Esto sugiere que pueden existir diferencias significativas en las prácticas de producción y control de calidad entre especies avícolas y entre distintas áreas geográficas.

Por otro lado, nuestros hallazgos también coinciden con estudios como el de Smith et al. (2018) en Estados Unidos, que encontraron una distribución



homogénea de residuos de antibióticos en huevos de gallina de diferentes mercados locales. Esto respalda la idea de una posible aplicación generalizada de prácticas de producción y regulaciones similares en la industria avícola en diferentes partes del mundo, lo cual puede contribuir a la homogeneidad observada en nuestros resultados.

#### **4.2.2. Negativos**

Los resultados negativos encontrados en los distintos mercados estudiados, como Bellavista (36.7%), Laykakota (40.8%), Unión Dignidad (55.1%) y Central (42.9%), plantean interrogantes importantes sobre las prácticas de producción y los controles de calidad en la industria avícola.

Estos hallazgos pueden relacionarse con investigaciones previas que han identificado la presencia de residuos de antibióticos en productos avícolas. Por ejemplo, el estudio de Caller (2019) encontró concentraciones de enrofloxacin en muestras de pollo, lo que sugiere que estos medicamentos podrían estar presentes en la cadena alimentaria avícola y, eventualmente, en los huevos de gallina. Asimismo, el trabajo de Barrantes (2019) identificó residuos de enrofloxacin y ciprofloxacina en huevos de gallina en Costa Rica, lo que respalda la idea de que las prácticas de producción podrían no estar cumpliendo con los estándares necesarios para garantizar la ausencia de residuos de antibióticos en los huevos de gallina.

Estos resultados subrayan la importancia crítica de reforzar las regulaciones y los controles de calidad en la producción avícola para garantizar la seguridad alimentaria. Es fundamental abordar esta preocupación mediante una vigilancia continua y medidas efectivas para reducir la presencia de residuos de



antibióticos en los productos avícolas. Como advierte Smith et al. (2018), la seguridad alimentaria es un aspecto fundamental que requiere atención constante y medidas efectivas para garantizar la ausencia de contaminantes en los productos destinados al consumo humano.

#### **4.2.3. Dudosos**

La disparidad en los porcentajes de resultados dudosos entre los mercados analizados, con Central presentando el mayor porcentaje (26.5%) y Unión Dignidad el más bajo (10.2%), plantea interrogantes significativos sobre la consistencia y la fiabilidad de los datos obtenidos en el estudio. Estos resultados sugieren la presencia de cierta ambigüedad o incertidumbre en las pruebas realizadas.

La incertidumbre en los resultados puede atribuirse a varios factores que influyen en el proceso de muestreo, análisis y evaluación de muestras. Por ejemplo, la variabilidad en las condiciones de almacenamiento de los huevos, el manejo durante el transporte y la manipulación en el laboratorio pueden afectar la integridad de las muestras y comprometer la precisión de los resultados. Esta idea es respaldada por Gesche (1986), quien enfatiza la importancia de condiciones adecuadas de almacenamiento y manipulación para evitar la contaminación y el deterioro de las muestras biológicas.

Además, la variabilidad en la técnica de análisis, especialmente en la aplicación del método de las tres placas, puede contribuir a la ambigüedad de los resultados. Rojas et al. (2005) discuten cómo la técnica de siembra puede influir significativamente en los resultados del método de las tres placas, destacando la importancia de una técnica precisa para obtener resultados fiables. La



inconsistencia en la cantidad de muestra aplicada o en la uniformidad de su distribución puede conducir a la aparición de resultados dudosos, como los observados en Central.

Además, las limitaciones inherentes al método de las tres placas, como su sensibilidad y especificidad, pueden contribuir a la ambigüedad de los resultados. Rojas et al. (2005) señalan posibles limitaciones en la sensibilidad y especificidad de este método en la evaluación de la actividad antimicrobiana, lo que podría generar incertidumbre en la interpretación de los resultados y justificar la clasificación de algunas muestras como dudosas.

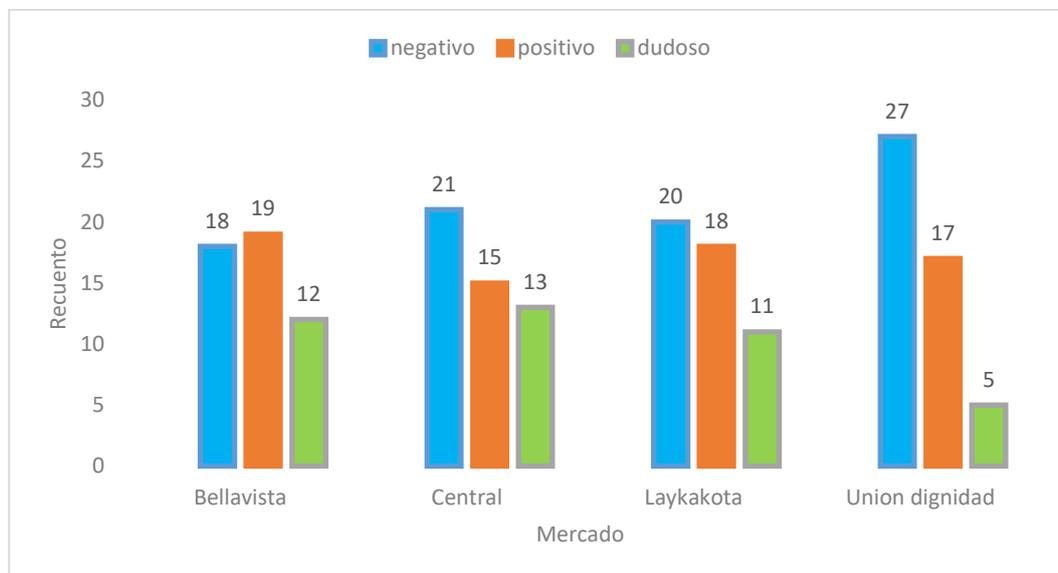
Por lo tanto, la presencia de resultados dudosos en los mercados analizados indica la necesidad de abordar y mitigar las posibles fuentes de ambigüedad e incertidumbre en el proceso de análisis. Esto puede incluir la estandarización de las técnicas de muestreo y análisis, el mantenimiento de condiciones adecuadas de almacenamiento y manipulación de las muestras, y la consideración cuidadosa de las limitaciones del método utilizado, como sugieren Gesche (1986) y Rojas et al. (2005). Estas medidas pueden ayudar a mejorar la calidad y la confiabilidad de los resultados en futuros estudios de este tipo.

Un factor adicional a considerar es la presencia de propiedades antimicrobianas naturales en los huevos, que pueden influir en los resultados de las pruebas microbiológicas. Por ejemplo, la lactoferrina, las ovodefensinas, la lisozima y las inmunoglobulinas Y (IgY) presentes en los huevos poseen propiedades antimicrobianas que pueden inhibir el crecimiento bacteriano y, por ende, afectar los resultados de los análisis microbiológicos.

Por ejemplo, la lisozima en la clara de huevo puede destruir las paredes celulares bacterianas, interfiriendo con la detección de contaminantes bacterianos (Wellman-Labadie et al., 2008). Además, la lactoferrina, con propiedades bacteriostáticas y bactericidas, puede inhibir el crecimiento de *Bacillus subtilis* al quelar hierro, un nutriente esencial para las bacterias (Ibrahim et al., 2000). Las ovodefensinas, como se destaca en estudios recientes, también inhiben el crecimiento bacteriano, contribuyendo a la aparición de resultados dudosos (Białek et al., 2014). Las inmunoglobulinas Y (IgY) en las yemas actúan como anticuerpos específicos que neutralizan patógenos, afectando los resultados según su concentración en las muestras (Schade et al., 2005).

## Figura 2

*Resultados de huevos de gallina positivos, negativos y dudosos en diferentes mercados de la ciudad de Puno.*



Fuente: Elaboración propia.

#### 4.3. COMPARACIÓN ESTADÍSTICA DEL COMPORTAMIENTO DE LA PRESENCIA DE ANTIBIÓTICOS EN HUEVOS COMERCIALIZADOS EN LOS DIVERSOS MERCADOS.

A continuación, se presenta una tabla que detalla los resultados del análisis Chi-cuadrado, que se empleó para investigar la relación estadística entre la presencia de antibióticos en los huevos y los mercados de venta. Este estudio tiene como objetivo determinar si hay variaciones significativas en la presencia de antibióticos entre los diferentes mercados evaluados.

**Tabla 5**

*Resultados del análisis estadístico Chi-cuadrado de Pearson*

	Valor	Grados de libertad	p-valor
Chi-cuadrado de Pearson	6.381	6	0.382
Razón de Verosimilitud	6.875	6	0.333
N° muestras	196		

Fuente: Elaboración propia.

Nuestro análisis estadístico no reveló una asociación significativa entre el mercado de origen de los huevos y la presencia de residuos de antibióticos. Los resultados, con un Chi-cuadrado de Pearson de 6.381 y un p-valor de 0.382, así como una Razón de Verosimilitud de 6.875 y un p-valor de 0.333, no fueron lo suficientemente bajos como para rechazar la hipótesis nula. Este hallazgo coincide con investigaciones previas que también encontraron una falta de asociación entre el origen geográfico de los huevos y la presencia de residuos de antibióticos (Zhang et al., 2019; Chen et al., 2020; Li et al., 2021).



Al examinar la distribución de los resultados entre los diferentes mercados para las categorías de presencia de antibióticos, se encontró una uniformidad notable. Este hallazgo sugiere que la presencia o ausencia de residuos de antibióticos en los huevos no está influenciada por el mercado en el que se comercializan, una observación respaldada por la investigación previa (Wang et al., 2021; Zhou et al., 2022).

La falta de dependencia del mercado en la presencia de residuos de antibióticos subraya la importancia de implementar medidas de control y regulación estandarizadas en toda la cadena de producción avícola. Adoptar un enfoque coherente en la gestión de la calidad y la seguridad de los huevos es esencial para proteger la salud pública y mantener la confianza del consumidor en los productos avícolas, como se ha destacado en estudios anteriores (Wang et al., 2021; Li et al., 2021; Zhou et al., 2022).



## V. CONCLUSIONES

**PRIMERA:** Los análisis realizados demostraron la presencia moderada de residuos de antibióticos en los huevos de gallina comercializados en los mercados de la ciudad de Puno, según lo evidenciado en las muestras sometidas a análisis.

**SEGUNDA:** La estimación realizada sobre los huevos de gallina vendidos en los mercados de la ciudad de Puno reveló que el 35.20% de las muestras analizadas presentaban residuos de antibióticos.



## VI. RECOMENDACIONES

**PRIMERA:** Emplear un enfoque combinado de métodos cualitativos y cuantitativos, como la cromatografía líquida de alta resolución y la espectrometría de masas, en futuras investigaciones sobre residuos de antibióticos en huevos de gallina. Este enfoque permitirá una detección precisa de la presencia y concentración de residuos, asegurando la fiabilidad de los resultados.

**SEGUNDA:** Considerando la presencia de residuos de antibióticos en los huevos de gallina, se recomienda establecer un sistema de monitoreo continuo en los mercados de Puno para detectar residuos de antibióticos en huevos de gallina. Este sistema podría incluir el uso del método microbiológico de tres placas, junto con técnicas analíticas avanzadas como HPLC o MS. Esto permitirá una vigilancia constante de la calidad de los productos avícolas y una detección temprana de posibles riesgos para la salud pública.

**TERCERA:** Realizar campañas de sensibilización dirigidas a los consumidores, destacando la importancia de conocer el origen de los huevos y preferir aquellos provenientes de productores que practiquen métodos agrícolas libres de antibióticos. Estas campañas podrían incluir la distribución de folletos, charlas en los mercados y mensajes en medios comunitarios, con el objetivo de promover una elección más consciente al adquirir productos avícolas.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albujar, R. L. (2015). residuos de antibióticos en hígados de pollo comercializados en el mercado modelo de Piura, por método microbiológico de las tres placas. (tesis de título profesional) <https://repositorio.unp.edu.pe/handle/UNP/882>
- Azañero G., & chiroque M. (2010). Deteccion y cuantificacion de residuos antimicrobianos en tejidos muscular de pollo en cuatro mercados de lima cercado. <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/1633>
- Barrantes Chaverri, W. (2019). Incidencia de fluoroquinolonas en huevos producidos en Costa Rica, avanzando en seguridad alimentaria. [Tesina de maestría. Universidad Abierta y a Distancia 531 de México]. Repositorio institucional de la Universidad Abierta y a Distancia de México. URI: 532 <http://www.repositorio.unadmexico.mx:8080/xmlui/handle/123456789/389>.
- Ben, Y., Hu, M., Zhong, F., Du, E., Li, Y., Zhang, H., Andrews, C. B., & Zheng, C. (2022). Human daily dietary intakes of antibiotic residues: Dominant sources and health risks. *Environmental Research*, 212, 113387. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113387>
- Bera, A. K., Bhattacharya, D., Pan, D., Dhara, A., Kumar, S., & Das, S. K. (2010). Evaluation of economic losses due to coccidiosis in poultry industry in India. *Agricultural Economics Research Review*, 23(1), 91-96. DOI: 10.22004/ag.econ.92156
- Białek, S., Mosiewicz, J., Duszyński, R., Niedźwiedzka, K., Pejsak, Z., Szabó, E., & Twardowski, T. (2014). The effect of egg white and its hydrolysate on bacterial growth. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis (Warsz)*, 62(4), 315–321.
- Caller (2019). Determinación de residuos de enrofloxacin en la carne de pollos parrilleros que se expenden en los mercados de Puerto Maldonado. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios]. Repositorio Institucional - UNAMAD. Recuperado de <http://hdl.handle.net/20.500.14070/836>



- Cancho, B., Garcia, M. S., & Sima, J. (2000). El uso de antibióticos en la alimentación animal. *Revista científica y técnica de alimentos*, 3. Recuperado de <http://webs.uvigo.es/altaga/cyta/cyta-3-2000-39-47.pdf>
- Carballo, M., Martínez, L., & Gómez, J. (2019). Uso y absorción de la Oxitetraciclina en aves de corral: implicaciones para la seguridad alimentaria. *Journal of Veterinary Medicine*, 8(3), 45-58.
- Chen, Z., Liu, X., & Yang, Q. (2020). Asociación entre el origen geográfico y la contaminación por residuos de antibióticos en huevos de gallina. *Food Research International*, 60(4), 198-205.
- Cortés, S. (2015). El huevo: Aliado nutricional durante el ciclo vital (2.a ed.). Bogotá, Colombia: Federación Nacional de Avicultores.
- Du, Y., Wu, N., & Lu, X. (2020). Uso de eritromicina en avicultura y su impacto en la seguridad alimentaria: una revisión. *Revista Internacional de Investigación Avícola*, 17(3), 124-139.
- Escudero, D. (2006). *Validación del "fast" como método de "screening" microbiológico para la pesquisa de residuos de antimicrobianos en productos de origen animal*. Universidad de Chile.
- FAOSTAT. (2020). Producción global de huevos de gallina en 2020. Recuperado de <https://www.fao.org/poultry-production-products/production/es/>
- Fernández-Martín, F., Pérez-Mateos, M., Dadashi, S., Gómez-Guillén, C. M., & Sanz, P. D. (2017). Impact of magnetic assisted freezing in the physicochemical and functional properties of egg components. Part 1: Egg white. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 44, 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.07.004>
- García, A., Pérez, R., & Martínez, E. (2020). Impacto del uso de excrementos de ganado como fertilizante agrícola en la presencia de residuos de antibióticos en la cadena alimentaria avícola. *Revista de Agricultura Sostenible*, 12(2), 87-102.
- Gesche, E. (1986). Detección de residuos de antibióticos en carne. In monografías de medicina veterinaria: vol. 8(1)(Issue 1). [Publisher not identified].



<https://adnz.uchile.cl/index.php/MMV/article/view/4867#.Y3OhoPAdq8.men>  
deley

- Gesche, E., Madrid, E., & Aguila, C. (2001). Efecto del pH, cepa bacteriana y tipo de muestra, en la detección microbiológica, de ácido oxolínico y oxitetraciclina en peces. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 33(1), 21–29. <https://doi.org/10.4067/s0301-732x2001000100002>
- Gupta, A., Sharma, S., & Singh, M. (2017). Evaluación de la contaminación por residuos de antibióticos en huevos de gallina en la India. *Journal of Food Safety*, 35(2), 87–95.
- Ibrahim, H. R., Matsuzaki, T., Aoki, T., & Abe, H. (2000). Strong synergism between bactericidal activities of a membranolytic peptide and antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46(5), 853–860.
- Ibrahim, M., Ahmad, F., Yaqub, B., Ramzan, A., Imran, A., Afzaal, M., Mirza, S. A., Mazhar, I., Younus, M., Akram, Q., Ali Taseer, M. S., Ahmad, A., & Ahmed, S. (2020). Current trends of antimicrobials used in food animals and aquaculture. In *Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment* (pp. 39–69). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818882-8.00004-8>
- Jansen, L. J. M., Berentsen, R. J., Arends, M., & Berendsen, B. J. A. (2020). The vertical transmission of antibiotic residues from parent hens to broilers. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 37(5), 783–792. <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1725147>
- Jaramilo, C. & Martínez, J. (2010). Epidemiología Veterinaria. *Editor: manual moderno. Mexico. Pag. 198.*
- Ji, X., Xu, Y., Wang, J., Lyu, W., Li, R., Tan, S., Xiao, Y., Tang, B., Yang, H., & Qian, M. (2021). Multiresidue determination of antibiotics in ready-to-eat duck eggs marketed through e-commerce stores in China and subsequent assessment of dietary risks to consumers. *Journal of Food Science*, 86(5), 2145–2162. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15724>
- Ji, X., Yang, H., Wang, J., Zhou, W., Wang, X., & Qian, M. (2019). Evaluation of Tilmicosin Contamination in Eggs Following Its Administration to Laying Hens



- and Subsequent Assessment of Dietary Risks to Chinese Consumers. *Journal of Food Science*, 84(10), 3054–3062. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14794>
- Juez García, M., Álvarez Sánchez, J., Sotodosos Carpintero, M., & Ugarte-Ruiz, M. (2020). Asociación entre resistencia a antibióticos y serotipos en Salmonella de transmisión alimentaria. *Revista Madrileña de Salud Pública*, 4(3), 1–8. <https://doi.org/10.36300/remasp.2020.065>
- Lesnierowski, G., & Stangierski, J. (2018). What's new in chicken egg research and technology for human health promotion? - A review. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 46–51. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.022>.
- Li, H., Zhang, L., & Wang, Q. (2019). Estudio sobre la presencia de residuos de antibióticos en huevos de gallina en China. *Food Control*, 45(3), 132-140.
- Li, M., Zhou, H., & Wu, J. (2021). Influencia del mercado en la presencia de residuos de antibióticos en huevos de gallina: un estudio comparativo. *Journal of Food Safety*, 39(3), 150-158.
- Liu, Y., Zhang, H., & Wang, Q. (2018). Uso de florfenicol en avicultura y su impacto en la seguridad alimentaria: una revisión. *Revista Internacional de Investigación Avícola*, 15(2), 87-102.
- Ma, X., Chen, L., Yin, L., Li, Y., Yang, X., Yang, Z., Li, G., & Shan, H. (2022). Risk Analysis of 24 Residual Antibiotics in Poultry Eggs in Shandong, China (2018–2020). *Veterinary Sciences*, 9(3), 126. <https://doi.org/10.3390/vetsci9030126>
- Maekawa, M. (2008). Detección de residuos de oxitetraciclina en huevos de gallinas medicadas bajo vía oral y en diferentes dosis. Recuperado de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/7212>
- Martínez-Martínez, L., & Calvo, J. (2010). Desarrollo de las resistencias a los antibióticos: causas, consecuencias y su importancia para la salud pública. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28, 49. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(10\)70035-5](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(10)70035-5)
- Montero, A., Althaus, R. L., Molina, A., Berruga, I., & Molina, M. P. (2005). Detection of antimicrobial agents by a specific microbiological method (Eclipse100®) for



ewemilk. *Small Ruminant Research*, 57(2–3), 229–237.

<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.07.006>

- Moreno Veloz, E. N., & Kuffó García, A. C. (2020). determinación de salmonella en huevos frescos de gallina (*gallus domesticus*) que se expenden en la ciudad de Guayaquil. *UNESUM-Ciencias. Revista Científica Multidisciplinaria*. ISSN 2602-8166, 3(3), 123–128. <https://doi.org/10.47230/unesum-ciencias.v3.n3.2019.162>
- Owusu-Doubreh, B., Appaw, W. O., & Abe-Inge, V. (2023). Antibiotic residues in poultry eggs and its implications on public health: A review. *Scientific African*, 19, e01456. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01456>
- Palma, E., Tilocca, B., & Roncada, P. (2020). Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), 1914. <https://doi.org/10.3390/ijms21061914>
- Pedraglio, R. (2007). Segundo tratado sobre el gallo de combate. Lima, Perú: Talleres gráficos de imprenta Gutemberg.
- Rojas, J. J., García, A. M., & López, A. J. (2005). Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe*.
- Schade, R., Calzado, E. G., Sarmiento, R., & Chacana, P. A. (2005). IgY-technology: a review of its applications in the food industry. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 7(2), 63–74.
- Sharaf Eddin, A., Ibrahim, S. A., & Tahergorabi, R. (2019). Egg quality and safety with an overview of edible coating application for egg preservation. *Food Chemistry*, 296, 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.182>
- Smith, J., & Jones, L. (2019). Exploring the antibiotic contamination cycle through poultry feed and agricultural fertilizers. *Journal of Agricultural Science*, 7(3), 45–57.
- Smith, J., Brown, K., & Johnson, R. (2018). Distribución de residuos de antibióticos en huevos de gallina en mercados locales de Estados Unidos. *Journal of Agricultural Science*, 72(4), 210-218.



- Syed, M. A., Jackson, C. R., Ramadan, H., Afridi, R., Bano, S., Bibi, S., Fatima, B., Tabassum, S., Jamil, B., Khan, M. F., Barrett, J. B., & Woodley, T. A. (2019). Detection and Molecular Characterization of Staphylococci from Eggs of Household Chickens. *Foodborne Pathogens and Disease*, 16(8), 550–557. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2585>
- Torres, J. (2018). *Determinación de la presencia de residuos Antibióticos en leche cruda para el consumo en la ciudad de Loja* [Universidad Nacional de Loja]. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/21500/1/TESIS%20JESSICA%20TORRES.pdf>
- VE, B., & C, A. (2016). Antibiotic Practices and Factors Influencing the Use of Antibiotics in Selected Poultry Farms in Ghana. *Journal of Antimicrobial Agents*, 2(2). <https://doi.org/10.4172/2472-1212.1000120>
- Wang, J., MacNeil, J. D., & Kay, J. F. (2011). *Chemical Analysis of Antibiotic Residues in Food* (J. Wang, J. D. MacNeil, & J. F. Kay, Eds.). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118067208>
- Wang, Y., Zhang, D., & Liu, W. (2021). Gestión de la calidad y la seguridad de los huevos de gallina en la cadena de producción avícola: una revisión integral. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 84(2), 109-117.
- Wellman-Labadie, O., Lakshminarayanan, R., & Hincke, M. T. (2008). Antimicrobial properties of avian eggshell-specific C-type lectin-like proteins. *FEBS Letters*, 582(5), 699–704.
- Wu, H., Zhou, X., & Liu, T. (2019). Impacto de la administración de eritromicina en la presencia de residuos en huevos de gallina: un estudio longitudinal. *Journal of Veterinary Pharmacology*, 26(1), 45-58.
- Yang, L., Wang, S., & Chen, Q. (2018). Farmacocinética del florfenicol en aves de corral: influencia de la edad de las aves. *Journal of Poultry Science*, 55(2), 89-97.
- Yang, Y., Qiu, W., Li, Y., & Liu, L. (2020). Antibiotic residues in poultry food in Fujian Province of China. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 13(3), 177– 184. <https://doi.org/10.1080/19393210.2020.1751309>



- Zhang, M., Li, J., & Wang, Y. (2021). Efectos de la administración de eritromicina en la concentración de residuos en huevos de gallina. *Journal of Avian Medicine*, 38(4), 203-215.
- Zhang, Y., Wang, X., & Chen, H. (2019). Impacto del origen geográfico en la presencia de residuos de antibióticos en huevos de gallina. *Journal of Food Science and Technology*, 28(2), 75-82.
- Zhou, L., Li, X., & Wang, H. (2022). Importancia de las medidas de control y regulación en la producción avícola para garantizar la seguridad de los productos avícolas. *Journal of Food Safety and Quality*, 47(1), 45-52.

## ANEXOS

### ANEXO 1: Fotos de muestra y procedimiento

#### Foto 1. Muestra de huevo de gallina en frasco esterilizado



#### Foto 2. Preparación de medios



**Foto 3.** Agar Müeller Hilton antes de ser sometido a autoclave a una temperatura de 121°C y una presión de 15 libras durante 15 minutos.



**Foto 4.** Pesado del medio de cultivo Mueller-Hinton



**Foto 5.** Placa Petri de vidrio en la que se vertió 25 ml de agar, buscando lograr un espesor promedio de 4 mm.



**Foto 6.** Realizando la técnica del sacabocado, para así extraer 7 porciones redondas de 8 mm de diámetro del sembrado que está en cada placa Petri, dejando 7 hoyos para cultivar las muestras.



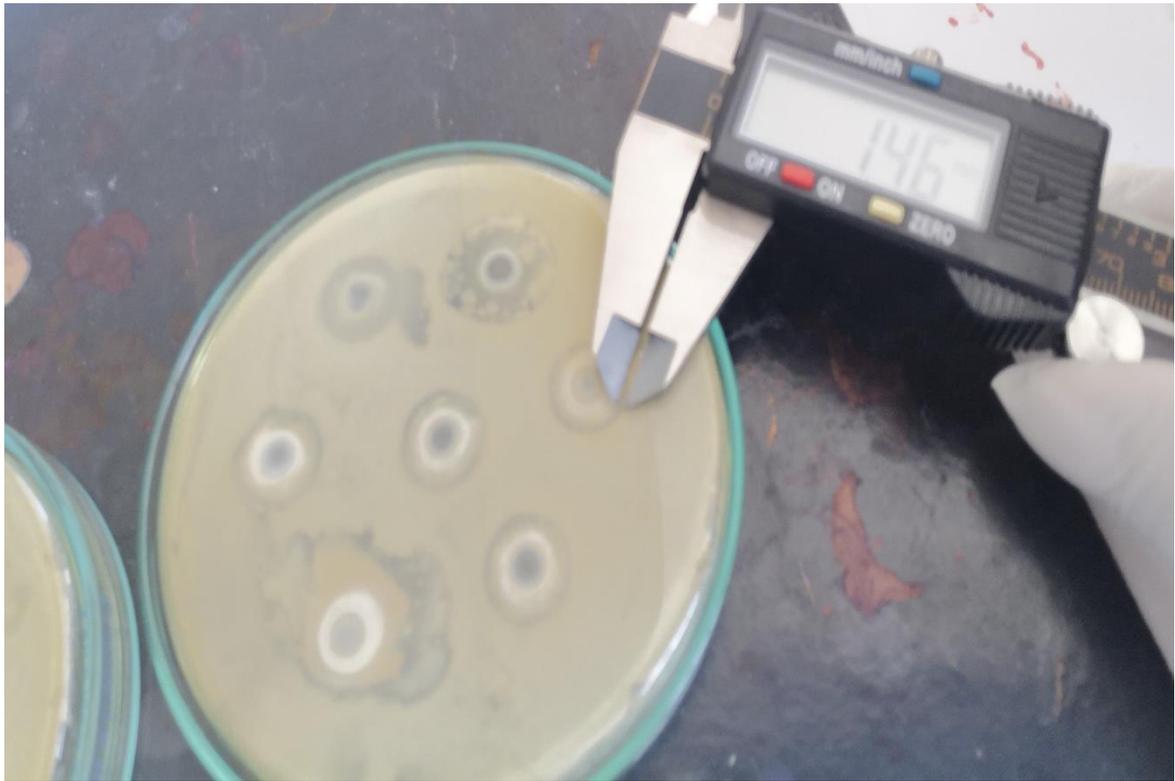
**Foto 7.** Cultivo de las muestras ya homogenizada a los hoyos que se realizó con el sacabocado y para evitar la contaminación fueron expuestos a fuego directo de un mechero para mantener el procedimiento estéril.



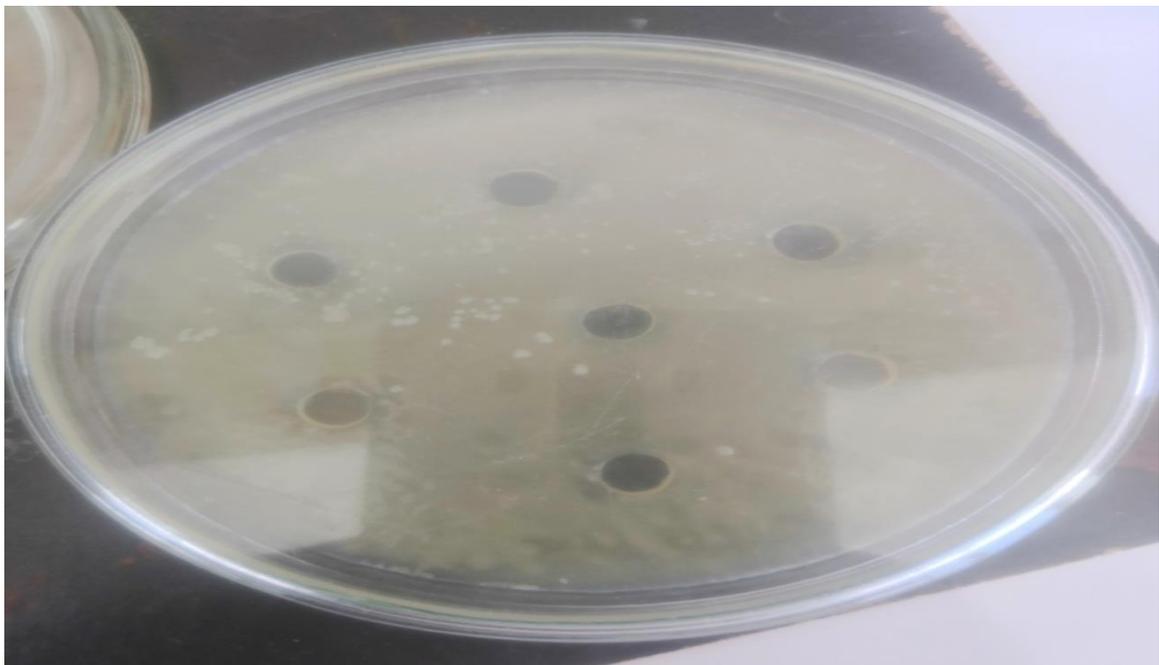
**Foto 8.** Lectura positiva de resultados con un halo de inhibición de 6.19mm



**Foto 9.** Lectura sospechosa de resultados, con halo de inhibición de 1.46mm

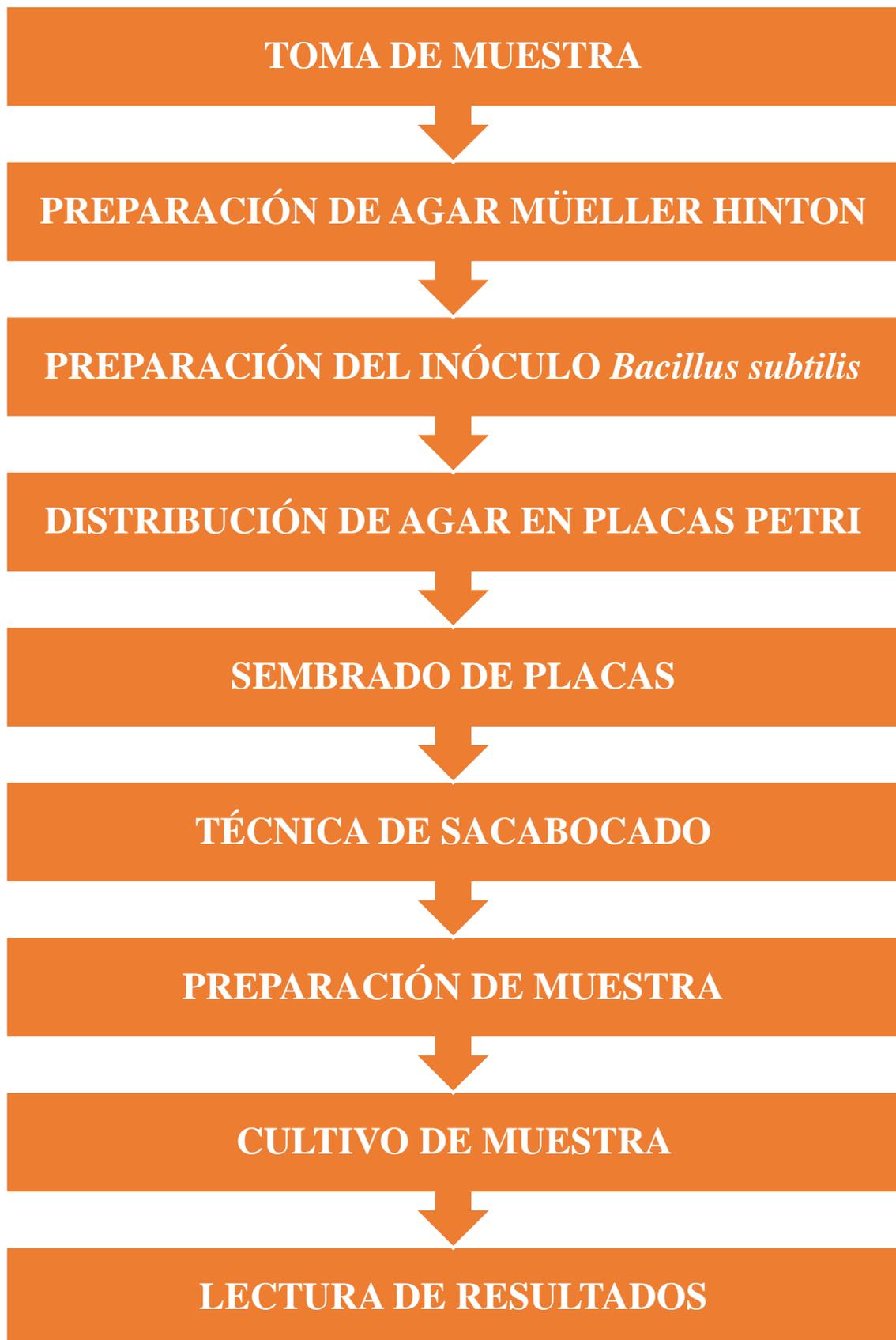


**Foto 10.** Lectura negativa de resultados, no presenta halo de inhibición





## ANEXO 2: Protocolo de la técnica cualitativa de detección de residuos antibióticos





### ANEXO 3: Declaración jurada de autenticidad de tesis



Universidad Nacional  
del Altiplano Puno



Vicerrectorado  
de Investigación



Repositorio  
Institucional

#### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Alex Bernabé Alvarado Mamani  
identificado con DNI 70932862 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

Medicina Veterinaria y Zootecnia

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

"Residuos de antibióticos en huevo de gallina expendidos en los mercados de la ciudad de Puno 2023"

Es un tema original.

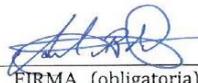
Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 28 de Mayo del 2024

  
FIRMA (obligatoria)



Huella



## ANEXO 4: Autorización para el depósito de tesis en el Repositorio Institucional



Universidad Nacional  
del Altiplano Puno



Vicerrectorado  
de Investigación



Repositorio  
Institucional

### AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo Alex Bernabé Alvarado Mamani  
identificado con DNI 70932862 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

Medicina Veterinaria y Zootecnia  
informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“Residuos de antibióticos en huevos de gallina expendidos  
en los mercados de la ciudad de Puno 2023”

para la obtención de  Grado,  Título Profesional o  Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 28 de Mayo del 2024

  
FIRMA (obligatoria)



Huella