



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



RESIDUOS ANTIMICROBIANOS EN HIGADOS DE POLLO
COMERCIALIZADOS EN CENTROS DE ABASTO DE LA
CIUDAD DE PUNO - 2022

TESIS

PRESENTADA POR:

DIANA LIZ QUISPE PARISUAÑA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2023



DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía, soporte y sobre todo por estar conmigo en cada etapa de mi vida.

A mis queridos padres, Adolfo Quispe y Rafaela Parisuaña, por darme la vida y acompañarme en cada etapa de mi vida. Quienes fueron mi ejemplo a seguir, por su apoyo moral, enseñarme que las cosas propuestas se pueden alcanzar con esfuerzo y perseverancia. Por su carácter, actitud y disciplina, pero sobre todo por brindarme su amor y apoyo incondicional.

A mis hermanos Nohemi Magnela, Daimler Neil, Luis Renzo y Leidy Analy, quienes me brindaron su apoyo, consejos, confianza y comprensión en todo momento.

A mis sobrinos Andrhé Jesús y yahel tihago por brindarme mucha alegría.

Liz Quispe Parisuaña



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, por ser parte de ella y abrirme sus puertas para prepararme y contribuir a la sociedad.

La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haber brindado la oportunidad de desarrollarme profesionalmente, así mismo agradecer a los docentes de esta casa de estudios, que fueron pilares durante mi proceso de formación profesional.

A mi equipo de trabajo conformados por mis padres Adolfo y Rafaela que con la ayuda de ellos se hizo posible la ejecución de la presente tesis.

A mi director de tesis Dr. Alberto Ccama Sullca, por todo el apoyo, tiempo, sugerencias y amplio conocimiento que me brindo durante todo el desarrollo de mi tesis.

A los miembros jurados; presidente MVZ. Ciriaco Teodoro Zúñiga Zúñiga, Primer miembro Mg. Oscar Henry Espezua Flores, Segundo miembro Mg. Renan Dilton Hañari Quispe, por la orientación y el apoyo brindado.

Al Mg. Francisco Halley Rodríguez Huanca por el apoyo brindado.

Al Ph. D. Ángel Mujica Sánchez por el apoyo brindado y sobre todo los consejos.

A mis amigas Yenny Sullma, Edith Flores y Mirian Gutierrez, que son parte de mi vida, compartiendo muchas experiencias y gratos momentos.

Liz Quispe Parisuaña



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

INDICE DE FIGURAS

INDICE DE TABLAS

INDICE DE ANEXOS

RESUMEN 10

ABSTRACT..... 11

CAPITULO I

INTRODUCCION

1.1 OBJETIVO GENERAL 13

1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS 13

CAPITULO II

REVISION DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES 14

2.2. MARCO TEORICO 21

2.2.1. Antimicrobianos..... 21

2.2.2. Antimicrobianos que se determinaron mediante el método microbiológico
de tres placas 23

2.2.3. Metabolismo y excreción de los antimicrobianos..... 24

2.2.4. Residuos antimicrobianos y su importancia en la salud pública 26

2.2.5. Diagnósticos de residuos de antibióticos en alimentos..... 29

CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS

3.1. UBICACIÓN 33



3.2. MATERIALES.....	33
3.2.1. Materiales para toma de muestras.....	33
3.2.2. Materiales biológicos.....	33
3.2.3. Materiales de laboratorio.....	34
3.2.4. Medios de cultivo.....	35
3.2.5. Reactivos.....	35
3.3. EQUIPOS.....	35
3.4. METODOLOGÍA.....	35
3.4.1. Toma de muestras.....	36
3.4.2. Preparación de Agar test pH 6.0, 7.2 y pH 8.0 para test de inhibición.....	36
3.4.3. Distribución de agar en placas Petri.....	37
3.4.4. Obtención, identificación y sembrando en placas de <i>Bacillus subtilis</i>	37
3.4.5. Procesamiento de muestras.....	38
3.4.6. Lectura de resultados.....	38
3.5. DISEÑO ESTADISTICO.....	39
3.5.1. Unidad de análisis.....	39
3.5.2. Muestra.....	39
3.5.3. Población.....	40
3.5.4. Diseño y análisis estadístico.....	40

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. RESIDUOS DE ANTIMICROBIANOS EN HIGADOS DE POLLO COMERCIALIZADOS EN CENTROS DE ABASTOS DE LA CIUDAD.	42
4.2. RESIDUOS DE TETRACICLINA EN HIGADOS DE POLLO COMERCIALIZADOS EN LOS CENTROS DE ABASTO DE LA CIUDAD DE PUNO.....	45



4.3. RESIDUOS DE GENTAMICINA EN HIGADOS DE POLLO COMERCIALIZADOS EN LOS CENTROS DE ABASTOS DE LA CIUDAD DE PUNO.....	46
4.4. RESIDUOS DE SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIM EN HIGADOS DE POLLO COMERCIALIZADOS EN LOS CENTROS DE ABASTOS DE LA CIUDAD DE PUNO.	48
4.5. DETECCION DE HIGADOS POSITIVOS EN 1, 2 o 3 MEDIOS CON DIFERENTES pH.....	49
V. CONCLUSIONES.....	51
VI. RECOMENDACIONES	52
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
ANEXOS.....	59

Área: Salud pública.

Tema: Residuos antimicrobianos en hígados de pollo.

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 12 de enero del 2023



INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Medios de cultivos con diferentes niveles de pH que contienen Sensidiscos y trozos de tejidos, siendo: M = músculo, R — riñón, P = penicilina; s = sulfamidas;	32
Figura 2. Determinación del tamaño del halo de inhibición formado alrededor del trozo de tejido (Gesche, 1986)	32
Figura 3. Hígados positivos y sospechosos a residuos de antimicrobianos	43
Figura 4. Hígados positivos, negativos y sospechosos a antimicrobianos en el medio pH 6,0.....	46



INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Grupo de inhibidores y pH asignado a cada placa en estudio.....	32
Tabla 2.	Porcentaje de hígados obtenidos de los centros de abasto de la ciudad de Puno que resultaron positivos, sospechosos y negativos a la prueba de detección de residuos de antimicrobianos.....	42
Tabla 3.	Resultados de la detección de Tetraciclinas (pH 6,0) en muestras de hígados de pollo comercializados en los centros de abastos de la ciudad de Puno...	45



INDICE DE ANEXOS

1. FOTOS DE TOMA DE MUESTRAS Y PROCEDIMIENTO	59
2. PROTOCOLO DE MUESTREO.....	65



RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la presencia de antimicrobianos en hígados de pollo comercializados en los centros de abasto de la ciudad de Puno, en un total de 196 hígados frescos de pollo del que se obtuvo 3 sub muestras haciendo un total de 588 sembrados a 3 pH 6.0, 7.2 y 8.0, analizados mediante el método microbiológico de tres placas, para lo cual los trozos de muestras de hígados se depositaron sobre el medio de cultivo Agar Müller Hinton ajustados a pH 6.0, 7.2 y 8.0 y sembrados con *Bacillus subtilis*, además se colocaron discos de sensibilidad de tres antimicrobianos: tetraciclina, sulfametoxazol/trimetoprim y gentamicina, respectivamente. Midiendo el tamaño de halo de inhibición de crecimiento de *Bacillus subtilis*, los resultados obtenidos fueron 29 hígados (14,79%) positivos, 125 hígados (63,78%) resultaron negativos y 42 hígados (21,42%) resultaron sospechosos a la prueba, llegando a la conclusión de que hay relativamente una baja cantidad de hígados de pollo comercializados en los mercados de la ciudad de Puno que presentan residuos de los antimicrobianos analizados. Los residuos de antimicrobianos más frecuentes encontrados en los hígados de pollo fueron de tetraciclina, seguidos sulfametoxazol/trimetoprim y gentamicina.

Palabras clave: Antimicrobianos, *Bacillus subtilis*, gentamicina, hígados, método de las tres placas, tetraciclina, sulfametoxazol, trimetoprim y gentamicina



ABSTRACT

The present study was carried out with the objective of determining the presence of antimicrobials in chicken livers marketed in the supply centers of the city of Puno, in a total of 196 fresh chicken livers from which 3 sub-samples were obtained, making a total of 588 seeded at 3 pH 6.0, 7.2 and 8.0, analyzed by the microbiological method of three plates, for which the pieces of liver samples were deposited on the Müeller Hinton Agar culture medium adjusted to pH 6.0, 7.2 and 8.0 and seeded with *Bacillus subtilis*, in addition, sensitivity disks for three antimicrobials were placed: tetracycline, sulfamethoxazole/trimethoprim, and gentamicin, respectively. Measuring the size of the *Bacillus subtilis* growth inhibition halo, the results obtained were 29 livers (14.79%) positive, 125 livers (63.78%) were negative, and 42 livers (21.42%) were suspicious at the test, reaching the conclusion that there is a relatively low amount of chicken livers sold in the markets of the city of Puno that present residues of the antimicrobials analyzed. The most common antimicrobial residues found in chicken livers were tetracycline, followed by sulfamethoxazole/trimethoprim and gentamicin.

Keywords: Antimicrobials, *Bacillus subtilis*, gentamicin, livers, three plate method, tetracycline, sulfamethoxazole, trimethoprim and gentamicin.



CAPITULO I

INTRODUCCION

Actualmente, el consumo de carne de pollo está aumentando en todo el mundo. Esto se debe a varios factores, pero principalmente porque es una proteína económica de producir y la infraestructura e instalaciones requeridas son fáciles de usar, lo que ha hecho que la industria esté ampliamente disponible (Pérez, 2017).

El uso de antibióticos en producción animal para tratar o prevenir enfermedades infecciosas y estimular su crecimiento se conoce desde finales de la década de los cuarenta, con poco control sobre su uso, y los riesgos para la salud que implican tales prácticas las convierten en un problema de salud subyacente. El uso de fármacos veterinarios en el proceso de crianza de animales destinados al consumo humano es aplicado con fines terapéuticos y preventivos en casos de infecciones o enfermedades los cuales al emplearse en dosis subterapéuticas y por tiempo prolongado tiene la finalidad de modificar la flora microbiana del intestino del animal, y para reducirlos. La capacidad de los microorganismos para de proliferar en las mismas, así evitar la competencia con el huésped por los nutrientes aumentando así la productividad y reducir la mortalidad (Acevedo, 2015; Hidalgo, 2015).

El problema está en el uso incorrecto y descontrolado de estos fármacos, lo que es un factor en el desarrollo de la resistencia bacteriana. Estas bacterias resistentes pueden ser transferidas a los humanos al consumir la carne de estos animales, el consumo de estos residuos de antibióticos de la carne puede provocar un cambio en la flora intestinal de los humanos, resultando en una disminución de las bacterias responsables de la competencia de microorganismos patógenos y por lo tanto un aumento del riesgo de infección, así



como la transmisión de bacterias resistentes, lo que dificulta el tratamiento de la infección; (Hidalgo, 2015; Talero, 2014).

Para conocer la situación de la presencia de residuos de antimicrobianos en hígados de pollo comercializados en los centros de abasto de la ciudad de Puno, es que se ha planteado el presente trabajo, que si bien es cierto hemos encontrado una cantidad relativamente baja de hígados positivos a la presencia de antimicrobianos, no dejan de ser preocupante, considerando que pueden aparecer bacterias antibiótico resistentes y causar problemas de salud pública.

1.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar la presencia de residuos de antimicrobianos en hígados de pollo comercializados en centros de abasto de la ciudad de Puno.

1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Estimar la presencia de residuos de tetraciclina en hígados de pollo comercializados en los centros de abasto de la ciudad de Puno.
- Estimar la presencia de residuos de gentamicina en hígados de pollo comercializados en los centros de abasto de la ciudad de Puno.
- Estimar la presencia de residuos de sulfametoxazol/trimetoprim en hígados de pollo comercializados en los centros de abasto de la ciudad de Puno.



CAPITULO II

REVISION DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Soto (2022) realizó una investigación, orientada a analizar la existencia del antibiótico oxitetraciclina en la carne bovina de la región litoral del Ecuador. Su investigación, basada en recopilaciones de varios estudios en buscadores como Scopus, Redalyc, Web of Science, PubMed y la biblioteca virtual de la Universidad Católica de Cuenca, podría juzgarse poco profunda. La información sobre el tema analizado en zonas costeras es escasa, pero se evidenció la presencia de oxitetraciclina en concentraciones superiores al límite permisible en tejidos animales, y su consumo podría estar relacionado con la presencia de resistencia bacteriana. Este estudio respalda la presencia de oxitetraciclina en la carne de res consumida por humanos y el potencial de resistencia a los antimicrobianos debido a la falta de un protocolo formal que establezca de manera clara y responsable la vía de administración del fármaco, el esquema de tratamiento y la dosis adecuada, una relación entre no solo el control y capacitación, sino que la falta de estas medidas tienden a contaminar la carne bovina con antibióticos, además de la falta de control y regulación en las granjas, mataderos y puntos de venta por parte de las autoridades correspondientes; puede llegar a ser perjudicial para el ser humano.

Doylet & Hidrovo (2021) desarrollo su investigación con el objetivo de determinar residuos de antibióticos en muestras de tejido de origen bovino comercializadas en el Mercado Central de Guayaquil, a partir del método del método de cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC para la detección de residuos de Oxitetraciclina (OTC) y Clenbuterol (CLB). Para el desarrollo de esta investigación se



utilizaron 15 muestras de hígado de res que fueron adquiridas en tres de los frigoríficos localizados dentro del Mercado Central. Los resultados obtenidos no indicaron la prevalencia de estas drogas en la matriz analizada. Aunque no se ha informado evidencia de contaminación con residuos de OTC y CLB en muestras de hígado de res, continuaremos con este tipo de estudio para mantener la inocuidad de los alimentos y garantizar que se respeten los tiempos de eliminación y se practique el uso correcto y responsable de los medicamentos veterinarios para mantener la salud del consumidor.

Berrezueta (2019) en su investigación con el objetivo de determinar la incidencia de residuos antibióticos en carnes de pollo y res procedentes de los mercados de Cuenca, en el que se incluyeron 37 muestras de pollo y 55 de res, obtenidas de los puestos expendedores de productos cárnicos ubicados en los mercados de la ciudad de Cuenca. La cromatografía líquida confirmó que no se detectaron residuos de antibióticos por encima de los límites aceptables para cefalosporinas, sulfonamidas, penicilinas y tetraciclinas. Según la cromatografía líquida, no se encontraron residuos de antibióticos en las muestras de carne obtenidas del mercado de Cuenca, obteniendo un resultado conforme al Codex Alimentario.

Galvez (2018) realizó su investigación con el objetivo de detectar los residuos de tetraciclinas (Clortetraciclina, oxitetraciclina y tetraciclina), en carne de ganado bovino sacrificado en el Camal Municipal de Santa Rosa, El Oro- Ecuador, mediante una prueba rápida (Smarkit) y establecer la asociación de los niveles residuales del fármaco con las variables edad, raza, género y procedencia del animal. Para lograr los objetivos antes mencionados, se examinaron 74 muestras de carne de res de esta región utilizando los métodos antes mencionados. El análisis mostró que el 32,4% de las muestras analizadas dieron positivo a la presencia de residuos de tetraciclina (clortetraciclina, tetraciclina,



oxitetraciclina). En el Ecuador se han realizado pocos estudios sobre este tema, pero estudios similares han demostrado que la carne de res destinada al consumo humano contiene grandes cantidades de antimicrobianos, más de los recomendados, probablemente determinados por el incumplimiento de los tiempos de retiro, el uso indiscriminado de antibióticos en la producción ganadera y la vigilancia inadecuada por parte de las autoridades sanitarias encargadas de mantener la inocuidad de los alimentos. No hubo problemas de salud pública ni riesgos a considerar.

Huamán (2022) realizó un trabajo destinado a determinar la presencia y concentración de residuos de triclabendazol (TCBZ) en leche cruda de dos tambos de Cajamarca, Perú. Se realizó sedimentación rápida (RST) y Kato-Katz para detectar y cuantificar huevos de trematodos hepáticos a partir de muestras fecales, y triclabendazol TCBZ, triclabendazol sulfóxido (TCBZSO) y triclabendazol sulfona (TCBZSO₂). La investigación se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector de matriz de diodos (HPLC-DAD) a partir de muestras de leche. Se encontraron huevos de *Fasciola hepatica* en muestras fecales de vacas tratadas con TCBZ de solo uno de los centros. Después de un período de retiro de 20 días, se detectaron TCBZSO y TCBZSO₂ en la leche en concentraciones mínimas de 0,006 ug/mL y 0,015 ug/mL, respectivamente. No se encontró TCBZ al momento de la retirada. Tanto las dosis únicas de TCBZ como las dosis basadas en la experiencia del criador (juicio personal arbitrario) fueron ineficaces para tratar y controlar la fasciolosis en el ganado infectado en este estudio. En este sentido, las autoridades sanitarias nacionales deben establecer tiempos de retiro y límites máximos de residuos para garantizar la inocuidad de los productos lácteos y eliminar posibles asociaciones con resistencia a TCBZ en humanos.



Champi & Morales (2022) en su estudio, que tuvo como objetivo confirmar la presencia de residuos de sulfonamida por encima del límite máximo de residuos en canales de cuyes vendidos en el Valle del Mantaro de Junín, Perú en 2020, se analizaron 433 canales de cuyes que incluyeron hígado, músculo y riñón. evaluaron las muestras. La detección de residuos de antibióticos se realizó mediante una técnica microbiológica de difusión en agar y fue del $62,6 \pm 4,5\%$ (271/433) en riñón, $59,4 \pm 4,6\%$ (257/433) en hígado y $59,4 \pm 4,6\%$ (257/433) en músculo, se obtuvieron 31,4 resultados positivos. $\pm 4,3\%$ (136/433). Se tomaron 82 muestras positivas con los halos de inhibición más altos para su análisis mediante un kit ELISA comercial específico para sulfonamidas, con $4,9 \pm 4,6\%$ (4/82). Los resultados indican la presencia de concentraciones de residuos de sulfonamidas que superan el límite máximo de residuos permitido en canales de cuyes en Junín, Valle del Mantaro.

Ampuero (2021) desarrollaron un estudio para determinar la presencia de antibióticos en hígado, riñón y músculo de cuyes criados en forma intensiva en cuatro ciudades del Perú. Para realizar este estudio, se evaluaron 410 muestras de hígado, riñón y músculo de cobayo. Las muestras fueron tomadas durante la etapa de aireación en tienda y enviadas al laboratorio de 4°C. La técnica utilizada fue la difusión microbiológica en agar utilizando la cepa *Bacillus subtilis* ATCC 6633 como cepa susceptible. De igual forma, se utilizó como control positivo un disco comercial de enrofloxacin con una potencia de 5 µg. Después de incubar las placas a 37 °C durante 24 horas, se midió el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano mediante la ley de Kirby-Bauer. Se obtuvo una frecuencia de halo de inhibición del crecimiento bacteriano de $28,54 + 4,37\%$ (117/410) para muestras de riñón, $27,07 + 4,3\%$ (111/410) para músculo y $26,59 + 4,28\%$ (109/410) para hígado. El estudio confirmó la presencia de residuos de antibióticos en músculo, hígado y riñón de canales de cuyes comercializados para



consumo humano en tres ciudades de Perú. Los resultados indican que no se ha cumplido el tiempo de espera del antibiótico después de la aplicación en animales.

Guerra & Elera (2021) su estudio tuvo como objetivo confirmar la presencia de sustancias antibacterianas residuales en tejido muscular de res y riñón vendidos en supermercados de la ciudad de Piura, Perú, utilizando 100 muestras de tejido muscular de lomo y puntas de cadera para eliminar grasa y grasa. aponeurosis y 100 muestras de riñón. El análisis de las muestras permitió determinar que 23 de estas resultaron positivas para la detección de residuos de antimicrobianos. El 5% correspondió a muestras de tejido muscular y el 18% a riñones. El mayor número de muestras positivas se obtuvo en el Supermercado I (2 tejido muscular y 7 riñón) y II (2 tejido muscular y 6 riñón). La media y la desviación estándar de los halos de inhibición en las muestras positivas fueron 4,4 y 0,7 para las muestras de tejido muscular y 5,0 y 1,3 para las muestras de riñón, respectivamente. El estudio concluye que residuos de antimicrobianos estuvieron presentes en tejido muscular y riñones de bovinos vendidos en supermercados de la ciudad de Piura y diagnosticados con la técnica *Bacillus subtilis*. Los resultados del estudio y los métodos utilizados representan un aporte para las autoridades sanitarias y pueden ser utilizados como evidencia para establecer medidas de control y evitar que productos y subproductos de origen animal que contengan residuos de antimicrobianos lleguen a los consumidores.

Mendoza (2021) Su estudio se realizó con el objetivo de evaluar la calidad bacteriológica y la resistencia antimicrobiana de patógenos provenientes de menudencias de pollo comercializadas en tres centros de venta de la ciudad de Puno, en cada centro de venta se recolectaron cinco muestras de menudencias, mesófilos aerobios y *E. coli*. se cuantificó en agar APC y Endo, respectivamente, por el método de recuento en placa, y



se determinó la presencia de *Salmonella spp.*, en agar XLD. La resistencia a los antibióticos se determinó por el método de difusión en agar utilizando discos de sensibilidad. Los datos obtenidos se analizaron mediante la prueba de análisis de varianza y la prueba de Tukey. Como resultado, las bacterias aerobias mesófilas variaron de $6,36 \times 10^6$ a $8,42 \times 10^6$ UFC/g, *E. coli* varió de $3,66 \times 10^6$ a $5,38 \times 10^6$ UFC/g, y la presencia de *Salmonella spp.* Las especies de *Salmonella* fueron resistentes a la doxiciclina y la oxitetraciclina, las *E. coli* fueron resistentes a la oxitetraciclina y aún más resistentes a la doxiciclina y la amoxicilina-ácido clavulánico. Se ha concluido que las vísceras de pollo no cumplen con la normativa vigente y presentan resistencia bacteriana a los antibióticos.

Lazarte (2022) desarrolló una tesis con el objetivo de Determinar la carga bacteriana y resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aisladas en carne bovina expandidas en los mercados Unión y Dignidad, Bellavista y Laykakota de la ciudad de Puno. Este estudio se desarrolló a partir de la recolección de 9 muestras de carne bovina, con tres repeticiones en los tres mercados. A partir del análisis de resultados, se logró determinar que se encontró una carga bacteriana de mesófilos aerobios que oscilaron entre $2,18 \times 10^6$ UFC/g y $3,20 \times 10^6$ UFC/g, *E. coli* entre $2,05 \times 10^6$ UFC/g y $2,36 \times 10^6$ UFC/g y *S. aureus* entre $0,44 \times 10^6$ y $1,50 \times 10^6$ UFC/g. En relación a la resistencia antimicrobiana, *E. coli* fue resistente frente a ampicilina con 44%, gentamicina 22% y amikacina 11%; *S. aureus* presentó resistencia a penicilina con 89%, eritromicina 22% y clindamicina 22%. Se concluye que el recuento de *E. coli* y *S. aureus* superan los límites permisibles y existe resistencia antimicrobiana en los tres mercados frente a ampicilina en bacterias aisladas de *E. coli* y *S. aureus*.

Paredes (2018) en su estudio destinado a determinar residuos de antibióticos en canales de bovinos (*Bos taurus*) sacrificados en un matadero específico de la ciudad de



Puno por métodos microbiológicos, se analizaron 248 muestras por el método del plato y *Bacillus subtilis*, se utilizó una muestra de canal de vaca. El estudio encontró que la proporción de canales con residuos de antibióticos era un 32,3 % más alta en hembras que en machos, un 30,2 % más alta en perros adultos que en perros jóvenes y un 32,7 % en razas Brown Swiss. Superior a los cruces criollos, el mayor porcentaje se encontró en animales de la región Huancane-Taraco con un 19,4%. El halo más grande de inhibición del crecimiento bacteriano por la presencia de antibióticos residuales en canales bovinas fue de 29,78 mm de diámetro y el halo más pequeño de 6,56 mm de diámetro.

Huaranca (2018) desarrolló su estudio con el objetivo de determinar la presencia de residuos de antibióticos betalactámicos en leche fresca por el método NT Standard Diffusion. Para realizar este estudio, se recogieron muestras de leche en las comunidades más productoras de leche de la comarca de Tarraco. Se utilizaron un total de 100 muestras en febrero y abril de 2018. Como resultado, se determinó que el 20 % de las muestras eran positivas para residuos de antibióticos betalactámicos. De las 50 muestras recolectadas durante la temporada de lluvias en febrero, 13 resultaron positivas, lo que representa el 26%. Durante la época seca de abril también se recolectaron 50 muestras, de las cuales 7 resultaron positivas, lo que representa el 14%. La leche contaminada con residuos de antibióticos se comercializa por representar un peligro para la salud pública y la industria láctea, a pesar de estar prohibida por normas técnicas nacionales e internacionales como DIGESA, HACCP y Codex Alimentarius respectivamente.

Aguilar (2018) realizó una investigación con el objetivo de determinar la presencia de residuos de antibióticos por el método microbiológico en las muestras de los canales de vacunos (*Bos taurus*) que se beneficiaron en el lapso del mes de enero del 2018. El trabajo de investigación se realizó en el camal municipal de la provincia de Ilave,



mediante una prueba microbiológica por el método de placa y el *Bacillus subtilis*, utilizando 338 muestras de canales de vacunos. A partir de los resultados obtenidos, se pudo determinar que, de los 338 bovinos, se mostró 133 muestras positivas, que representa el 39.30% de positivos a residuos de antibióticos en las canales. El porcentaje de residuos de antibióticos fue mayor en los machos con 74 positivos (21.8%), frente a las hembras que fue de 59 positivos, los adultos presentaron mayor número de positivos con 91 carcasas frente a los jóvenes (26.9%), la raza Brown Swiss mostro 82 positivos (24.3%) muy superior al cruce con criollos, y el mayor porcentaje lo mostro los animales que provienen de la zona de Ilave con 62 muestras positivas (18.3%), el mayor halo de inhibición de crecimiento bacteriano frente a la presencia de residuos de antibióticos en canales de bovinos fue de 24.56mm y el menor halo fue de 5.84mm de diámetro.

2.2. MARCO TEORICO

2.2.1. Antimicrobianos

La OMS define este término como un conjunto de cualquier compuesto que pueda prevenir el desarrollo de microorganismos, incluidos los antibióticos (sintetizados por microorganismos) y la quimioterapia (sintetizados químicamente). Los antibióticos se usan principalmente para tratar enfermedades infecciosas, pero también se agregan a menudo como aditivos para piensos y promotores del crecimiento para la acción preventiva (Albújar, 2015).

2.2.1.1. Terapéutica

Los antibióticos se usan terapéuticamente para tratar infecciones verificadas. Este tipo de terapia antimicrobiana es el mejor para determinar las bacterias responsables de la infección: A menudo se inicia empíricamente cuando se sospecha infección cuando la necesidad de tratamiento se considera urgente. Para evaluar posteriormente la eficacia de



los antibióticos utilizados, es crucial realizar los exámenes necesarios antes de comenzar el tratamiento, si es posible. Para mejorar la eficacia del tratamiento y disminuir los posibles efectos adversos en la flora intestinal, también es preferible utilizar sólo antibióticos de corto espectro (Albújar, 2015).

Los ensayos clínicos y los estudios cinéticos se realizan en laboratorios farmacéuticos asociados que aseguran niveles de fármaco suficientes para eliminar bacterias para las dosis propuestas, por lo tanto, siempre se deben utilizar dosis específicas. (Cancho & Sima, 2000)

Aunque la ruta para la administración preferida por los veterinarios varía en función de la especie del animal, la alimentación con pienso suplementado con fármacos es la más utilizada para la medicación en el campo de la ingeniería animal, aunque en las aves es habitual su uso para estos fines (Azañero & chiroque, 2010).

2.2.1.2. Profilaxis

Los antibióticos deben usarse profilácticamente solo cuando hayan demostrado su importancia en la prevención de infecciones durante el seguimiento de un procedimiento específico. Los ciclos de crecimiento de los animales, por ejemplo, son especialmente susceptibles a seres infecciosos muy particulares. Los antibióticos adquiridos recientemente suelen ser menos eficaces en estas situaciones para prevenir las infecciones que los antibióticos existentes y pueden fomentar la aparición de resistencia y no deben usarse (Azañero & chiroque, 2010).

Los agentes antimicrobianos se añaden a los alimentos estando premezclados de medicamentos sólidos o de baja concentración y se utilizan durante períodos



relativamente largos de tiempo, lo que hace que los alimentos sean una de las vías de entrega de medicamentos profilácticos más populares (Cancho & Sima, 2000).

2.2.1.3. Promotor de crecimiento

La flora animal puede controlarse por los promotores del crecimiento de los antimicrobianos. Esto traduce en una mejor utilización de los nutrientes y un aumento significativo del peso corporal, en este caso para un aditivo que se añadió a la alimentación a concentraciones inferiores a los niveles terapéuticos durante un periodo de tiempo extremadamente largo (Cancho & Sima, 2000)

2.2.2. Antimicrobianos que se determinaron mediante el método microbiológico de tres placas

2.2.2.1. Tetraciclinas

Debido a sus precios asequibles, la oxetracilina y la clortetraciclina siguen siendo las tetraciclinas más utilizadas; la oxetracilina absorbe más eficazmente que la clortetraciclina. Las tetraciclinas tienen diferentes grados de unión a las proteínas del plasma después de ser absorbidas, dependiendo de la especie. Después de la administración oral o intravenosa, las tetraclicinas se distribuyen ampliamente en la mayoría de los tejidos del cuerpo y se acumulan en el hígado. La oxtetraciclina, la tetraciclina y la clortetraciclina se absorben rápidamente y moderadamente del tracto gastrointestinal, siendo la clortetraciclina la que tiene la menor absorción. Estos tres compuestos de tetraciclina se distribuyen ampliamente por todo el cuerpo tras la absorción por las diversas muestras de administración, llegando incluso al hueso, con las concentraciones más altas en los riñones y los riñones. Es importante tener en cuenta que las tetraciclinas son solubles en iones de calcio, magnesio, hierro y aluminio, lo que



reduce su biodisponibilidad y tiene un efecto significativo en la absorción. Los iones de calcio no obstruyen la absorción de la doxicilina (Albújar, 2015).

2.2.2.2. Sulfamidas

Cuando se combinan con trimetoprima, las Sulfonamidas siguen siendo útiles en el tratamiento de los pájaros. El intestino absorbe eficazmente la mayoría de las Sulfonaminas. Se encuentran en muchos tejidos blandos de todo el cuerpo, incluidas las articulaciones y el sistema nervioso central. El hígado elimina las Sulfonaminas como sus compuestos originales o como metabolitos. Estos también se excretan en la saliva, el páncreas, el estómago y los jugos intestinales, así como en las uñas, las heces, la biliaria, la leche y la sudoración. (Albújar, 2015).

2.2.2.3. Aminoglicosidos

Los aminoglicosidos suelen causar nefrotoxicidad; son activos contra las grandes bacterias negativas y algunas grandes bacterias positivas, pero ineficaces contra las bacterias anaeróbicas. Neomicina, Kanamicina, Gentamicina y Spiramicina son los aminoglicosidos más conocidos en el campo aéreo. Estos antibióticos, que son aminoglicosidos, tienen una mala absorción oral, lo que dificulta obtener niveles en el suero. Como resultado, se utilizan seriamente para tratar enfermedades intestinales (Albújar, 2015).

2.2.3. Metabolismo y excreción de los antimicrobianos

Los dos procesos de metabolismo y excreción suelen combinarse para eliminar los fármacos de forma completa e irreversible:



La transformación química del compuesto original en un metabolito o metabolitos que se excretan más fácilmente se produce durante los procesos de metabolismo o biotransformación de los fármacos. La mayoría de las veces, los procesos de enzimas hepáticas se utilizan para descomponer fármacos. La excreción de fármacos es el proceso de deshacerse del fármaco en sí o de sus metabolitos. Otros métodos de expulsión además de la orina incluyen la bilirrubina, la saliva, la leche e incluso la respiración. Aunque muchos órganos pueden metabolizar los productos químicos, el hígado es el órgano principal que participa en el metabolismo de los fármacos (Albújar, 2015).

2.2.3.1. Biotransformación hepática

Aunque una variedad de tejidos tiene la capacidad de sufrir una biotransformación, los procesos enzimáticos del hígado se encargan principalmente de la transformación bioquímica con un mayor carácter lipofílico suelen tener un acceso más fácil al entorno intracelular donde se producen los procesos de biotransformación. De hecho, la transformación metabólica es conceptualmente la forma en que el cuerpo tiene que garantizar que una molécula pueda ser eliminada, lo que se consigue aumentando su polaridad. El resultado habitual es la síntesis de metabolitos más polares (hidrofílicos) que el compuesto original y que, por tanto, son más fáciles de eliminar por la excreción renal o biliar (Albújar, 2015).

2.2.3.2. Excreción biliar

Los hepatocitos producen y almacenan continuamente bilirrubina, un subproducto de la excreción hepática, en la vesícula biliar. La vía excretora más importante para algunos fármacos y metabolitos polares y de alto peso molecular es el sistema biliar. Los compuestos que se eliminan a través de esta vía son polares, lo que les impide ser reabsorbidos fácilmente del tracto biliar o del intestino. Las heces suelen eliminar



sustancias químicas excretadas por el tracto biliar. En general, los pájaros tienen una gran capacidad de excreción biliar (Albújar, 2015).

2.2.4. Residuos antimicrobianos y su importancia en la salud pública

El efecto terapéutico final del fármaco, o si es eficaz contra la enfermedad que trata, es una de las principales preocupaciones en la selección y uso de fármacos en la práctica humana y veterinaria. En general, las dosis se administran de acuerdo con las recomendaciones del etiquetado o las leyes, y la toxicidad potencial se convierte en una preocupación mayor cuando se administran dosis más altas. La persistencia de los residuos de la medicación después de que se haya tratado el proceso patológico supone preocupaciones adicionales para los veterinarios y el ganado que participan en el tratamiento de la enfermedad (Albújar, 2015).

Existe la posibilidad de que los residuos de medicamentos y sus metabolitos acaben en alimentos derivados de animales para consumo humano, pudiendo causar resistencia bacteriana, virulencia, reacciones inmunopatológicas e incluso cambios en el microbiota intestinal (Cancho & Sima, 2000).

Algunos medicamentos veterinarios, como el cloranfenicol y el nitrofurano, pueden ser tan peligrosos que la FDA los ha prohibido por completo para el consumo animal. La administración a largo plazo o la sobredosis de nitrofuranos pueden causar infertilidad y problemas cardíacos, por otro lado, los residuos de cloranfenicol tienen la capacidad de causar anemia aplásica en humanos y pueden ser fatales. Todos los tejidos comestibles, la leche y los huevos contienen restos y metabolitos de cloranfenicol (Albújar, 2015).



2.2.4.1. Residuos de antimicrobianos

Son sustancias, como el ingrediente activo original y/o los productos de biotransformación, que permanecen en el cuerpo del animal después del tratamiento (metabolitos).

Estos residuos pueden o no estar presentes en función del tipo de producto, la dosis, el método de aplicación y el intervalo de tiempo entre la aplicación y el sacrificio (para la carne y el hígado) o la recogida del producto (para leche y huevos). Si estos residuos se toman regularmente y se acumulan en los tejidos, sus efectos, si son inseguros en sus cantidades, pueden ser muy perjudiciales (Pérez, 2005).

2.2.4.2. Resistencia bacteriana

Debido al abuso de antibióticos compuestos y a la falta de nuevos fármacos en el mercado, muchas bacterias han dejado de responder a los antimicrobianos, lo que hace que este sea uno de los problemas de salud pública más graves del mundo. El uso de antibióticos y la presencia de genes de resistencia ejercen una presión selectiva sobre las bacterias, lo que a su vez conduce al desarrollo de la resistencia. El uso generalizado de antibióticos ha creado una presión selectiva que ha facilitado la propagación de cepas bacterianas que son resistentes a ellos: “Esto es para que los agentes de resistencia, que pueden actuar en respuesta o adquirir codificación genética adicional para un mecanismo de resistencia, puedan surgir de mutaciones espontáneas y ser genéticamente fijos” (Albújar, 2015).

Los mecanismos genéticos basados en el ADN del cromosoma que subyacen a la resistencia bacteriana incluyen la mutación, la adquisición de material genético extracromosómico, la transformación, la conjugación y la transducción. La presencia



de genes de resistencia puede encontrarse en la flora de diversos nichos ecológicos, y como resultado, pueden propagarse de una persona a otra, de un animal a otro, de un animal a una persona, de un animal a un alimento, o de un alimento a una persona, según su cadena epidemiológica (fuente de infección, mecanismo de transmisión y huésped sensible) (Chávez, 2008).

2.2.4.3. Toxicidad

De acuerdo con (Azañero & chiroque, 2010). No se enfermará al consumir "ocasionalmente" alimentos para animales con restos de medicamentos porque los efectos de los residuos no se manifiestan con un problema de toxicidad aguda. La manifestación se produce al consumir pequeñas cantidades de residuos durante un periodo de tiempo prolongado. Estos efectos pueden dividirse en dos categorías principales. Los efectos directos son los que resultan del uso terapéutico de los antimicrobianos. Pueden aparecer en una amplia gama de manifestaciones clínicas, como la toxicidad de los riñones, la sangre, la médula ósea, la oreja, los efectos teratógenos, los que provocan cáncer y las alergias graves. Y los efectos indirectos se exponen por diversas condiciones asmáticas y fenómenos de resistencia bacteriana.

Según estudios recientes, los compuestos de sulfamidas, especialmente la sulfametazina, pueden causar cáncer en las personas cuando se consumen en pequeñas cantidades durante un periodo de tiempo prolongado (Sumano, 2006)

2.2.4.4. Reacciones inmunopatologicas

Se debe al consumo de pequeñas cantidades de antimicrobianos que pueden causar hipersensibilidad que las reacciones adversas, que van desde una simple picadura hasta



una enfermedad anafiláctica, se producen cuando se administran antimicrobianos a individuos susceptibles (Gesche & Emilfork, 1998).

2.2.5. Diagnósticos de residuos de antibióticos en alimentos

Los métodos biológicos se utilizan con frecuencia para detectar los residuos de antibióticos. Esto permite la detección rápida de una amplia gama de grupos antibacterianos. Además, el bajo costo y las ventajas lo hacen ideal para su implementación como prueba de detección. a niveles carnívoros para ayudar a mantener cortos los tiempos de detección de desechos (Merino, 2006)

2.2.5.1. Microorganismos indicadores

Hay consenso sobre las ventajas de realizar pruebas microbiológicas, como un enfoque cualitativo de las pruebas, basado en la comparación de cepas sensibles con muestras problemáticas.

Una prueba de orina con *Micrococcus luteus* como cepa sensible apareció por primera vez en Holanda en 1973. El año siguiente, empezaron a evaluar los beneficios de una cepa de *Bacillus subtilis* que nombraron en Alemania Federal (B.G.A.). Este microorganismo indica un alto nivel de sensibilidad a numerosos antibióticos. Las preocupaciones sobre la adopción y la mejora del método para ampliar su alcance a niveles inferiores de sulfonamidas y ácido cloranfenico que los alcanzados en ese momento han surgido simultáneamente en varias naciones europeas. Esta preocupación ha llevado a la propuesta de un sistema de cuatro placas que, además de utilizar las bacterias mencionadas, también incluye una cepa sensible de *Escherichia coli* y dos niveles de pH. (Gesche, 1986)



Con trimetoprima, que mejora la acción de las sulfonamidas y facilita la detección de niveles inferiores de estas sustancias, seguimos estudiando *B. subtilis* como una sola cepa a diversos niveles de pH, ampliando el espectro de absorción de los antibióticos (Albújar, 2015).

La prueba de la placa 3 se convirtió en la técnica oficial para identificar los antibióticos en la carne en Alemania Federal en 1983. La técnica puede aplicarse en otras naciones y establece un buen equilibrio entre la practicabilidad y la seguridad del diagnóstico (Gesche, 1986).

2.2.5.2. Técnica rápida: prueba STOP

Esta prueba se realiza utilizando un agar Mueller-Hinton, una cepa de *Bacillus subtilis* y discos de Neomicina en vasos de Petri. Se utilizará un hisopo que se añadió anteriormente a la suspensión de *Bacillus subtilis* para sembrar cada placa. A continuación, los hisopos de algodón o esteriles se presionan contra el agar mientras se sumergen en los fluidos corporales (hígado, riñones y músculo). Un disco de neomicina también será colocado en el centro del cultivo. La placa es incubada a 25 - 35 °c durante 18 - 24 horas y se leen los resultados. Una zona inhibidora rodeada por los tubos y discos de neomicina, que sirven de controles, indica una respuesta positiva. El halo de inhibición debe ser mayor de 2 mm para ser consideradas positivas (Chávez, 2008)

2.2.5.3. Metodología de las cuatro placas

Este método fue desarrollado aproximadamente en 1980 por un equipo de trabajo del Comité Científico Veterinario de la Comisión de la Comunidad Europea (CCE) en colaboración con expertos de nueve Estados miembros de la misma Comunidad. una técnica microbiológica cuidadosa y fiable. El método que se sugiere utiliza una prueba de difusión de agar de cuatro placas con dos microorganismos diferentes (*Bacillus subtilis* y



Micrococcus luteus ATCC 9341). De hecho, la prueba se basa en otras pruebas existentes y el nuevo elemento es una placa que contiene trimetoprima y *Bacillus subtilis* para detectar residuos de sulfonamida. Básicamente, la prueba de residuos de antibióticos SCC es una combinación de las pruebas alemanas: la prueba AH, la prueba *Sarcina lutea* (cambiada a pH 8) y una variante de la prueba de sulfonamida. Basándose en la cultura de un microorganismo en agar que es sensible a un antimicrobiano particular o a grupos de antimicrobianos que se quedan en los tejidos animales o en sus productos, el método de cuatro placas puede identificar la presencia de estos residuos. Este método puede modificarse para lograr una amplia gama de identificación añadiendo más antimicrobianos a una placa. Para ello, se experimenta con el cultivo en agar de diferente composición y pH. Por ejemplo, para las quinolonas, se puede añadir *Escherichia coli* como bacteria objetivo y el medio nutritivo tiene un pH de 7,2 (Azañero & chiroque, 2010).

2.2.5.4. Metodología de tres placas

El método de tres placas, también conocido como prueba de inhibidor de los tejidos, es una prueba de cribado que utiliza una técnica microbiológica para demostrar la actividad antibacteriana de la sustancia presente en los tejidos. Esta prueba se basa en la idea de que cuando se coloca una muestra de tejido conteniendo un inhibidor en un medio nutritivo sólido que también contiene una cantidad conocida de bacterias (B.G.A.), el inhibidor se difundirá en el medio de cultivo y creará un halo de inhibición alrededor del tejido. El efecto inhibidor se cuantifica por el tamaño de la zona inhibidora. (Alvalos, 2008).

Figura 1. Medios de cultivos con diferentes niveles de pH que contienen Sensidiscos y trozos de tejidos, siendo: M = músculo, R — riñón, P = penicilina; s = sulfamidas; e = estreptomomicina (Gesche, 1986).

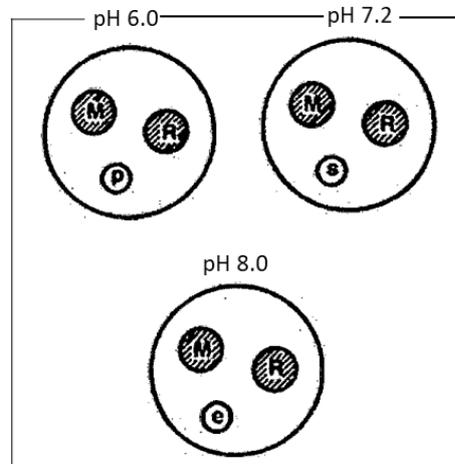


Figura 2. Determinación del tamaño del halo de inhibición formado alrededor del trozo de tejido (Gesche, 1986)

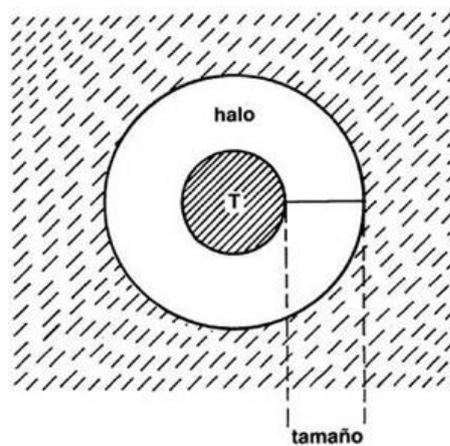


Tabla 1. Grupo de inhibidores y pH asignado a cada placa en estudio

Grupo de inhibidores	Microorganismo	pH del medio (a 30 °C)
Penicilinas/tetraciclinas	<i>Bacillus subtilis</i>	6,0
Sulfamidas	<i>Bacillus subtilis</i>	7,2
Aminoglucósidos	<i>Bacillus subtilis</i>	8,0

Fuente: (Gesche & Emilfork, 1998)



CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS

3.1. UBICACIÓN

La toma de muestras se realizó en los centros de abasto (Mercados: Bellavista, Central, Laycacota y Comercial Negolatina) ya que en estos centros se realizan la venta de carne de pollo del distrito de Puno, provincia y departamento de Puno, cuyas coordenadas, latitud sur 15° 49' 20" y longitud 70° 01' 07" (SENAMHI, 2022)

El procedimiento de las muestras se realizó en el Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, a 3823 msnm; ubicado en el Distrito de Puno, Provincia de Puno, Departamento de Puno, latitud sur 15° 49' 20" y longitud 70° 01' 07" (SENAMHI, 2022).

3.2. MATERIALES

3.2.1. Materiales para toma de muestras

- Guantes de látex descartable
- Bolsa plástica de polietileno de 7 x 10cm
- Plumón indeleble negro
- Cooler y refrigerantes de gel
- Jabón líquido
- Cuaderno de registro

3.2.2. Materiales biológicos

- Cepa de *Bacillus subtilis*



- Muestra de hígado

3.2.3. Materiales de laboratorio

- Jeringas hipodérmicas descartables de 5 y 10 ml de capacidad
- Alcohol de 1litro al 96% de pureza
- Algodón hidrófilo estéril de 100 gramos
- Mandil blanco
- Regla Vernier digital
- Sacabocados de plástico de 8 mm
- Agua destilada
- Guantes de látex descartables esteriles
- Mascarilla descartable
- Tubo de ensayo de 15 ml de capacidad
- Matraz etlenmeyer de vidrio de 100 ml de capacidad
- Mechero de alcohol
- Probetas de vidrio de 50 ml de capacidad
- Asa de siembra de kolle
- Pinzas esteriles de metal
- Gradilla de metal
- Tiras de pH OF descartable
- Hisopos de algodón esteriles
- Discos comerciales BBL de tetraciclina de concentración de 30 ug
- Discos comerciales BBL de sulfametoxazol/trimetoprim; 23,75 ug/1,25 ug
- Discos comerciales BBL de gentamicina, 10ug



3.2.4. Medios de cultivo

- Agar Müeller Hinton de 500 g Merck.
- Agua peptonada.

3.2.5. Reactivos

- Acido clorhidrico (HCl) 1N
- Hidroxido de sodio (NaOH) 1N

3.3. EQUIPOS

- Balanza digital marca Metler, capacidad de 0.1mg-160 mg.
- Cocinilla eléctrica
- Horno
- Refrigeradora
- Incubadora
- Autoclave

3.4. METODOLOGÍA

Se tomaron 196 muestras de hígados de pollo sin ningún criterio de inclusión ni exclusión considerando que la presencia de residuos antimicrobianos no altera ninguna característica de este producto; de estas muestras se obtuvieron 3 sub muestras y de cada uno se obtuvo resultados diferentes (tetraciclina, sulfamida/trimetoprim y gentamicina) para cada uno de ellas, haciendo un total de 588 resultados.

El análisis de las muestras se realizó siguiendo el protocolo de la técnica cualitativa de detección de residuos de antibióticos en musculo esquelético animal por el



método de las tres placas, modificada a una prueba de tres placas siguiendo el patrón de las pruebas realizadas por (Gesche, 1986).

3.4.1. Toma de muestras

- Cada muestra fue registrada en un protocolo de muestreo.
- Las muestras fueron colectadas todos los días en las mañanas, durante el expendio de carne.
- Las muestras de hígado se tomaron libres de fascia (un hígado completo).
- Cada hígado fue colocado en bolsas de polietileno de primer uso e identificadas con plumón indeleble y depositados en una caja de tecnopor con hielo.

Luego fueron transportadas al laboratorio de Microbiología Veterinaria en un Cooler a una temperatura de 4-8°C, donde fueron congelados a -3 °C, durante 2 horas hasta el momento del procesamiento.

3.4.2. Preparación de Agar test pH 6.0, 7.2 y pH 8.0 para test de inhibición

El medio de cultivo se preparó un día antes de ser utilizado y fue almacenando en refrigeración.

Composición del Múeller Hinton:

- Peptona de carne 3,45 g
- Peptona de caseína 3,45 g
- Cloruro de sodio..... 5,10 g



- Agar Agar..... 13,00 g

Se peso 2,25 g del medio y se suspendió en 100 ml de agua destilada, luego se calentó y se agito suavemente hasta la completa disolución.

Posteriormente se dejó enfriar a una temperatura entre 45-50 °C, este proceso se repitió hasta preparar 3 matraces con 100 ml de medio de cultivo cada uno. El pH de uno de los medios de cultivo no fue modificado (pH 7,2) pero los otros se ajustaron a pH 6,0 y 8,0 con NaOH o HCl, utilizando un pHchmetro digital. El pH fue controlado antes y después de colocar los medios de cultivo en autoclave. El autoclavado se realizó a 121 °C por 15 minutos, a 15 libras de presión.

3.4.3. Distribución de agar en placas Petri

Terminada la esterilización los medios de cultivo fueron enfriados a 45 °C y vertidos en placas Petri de 9 cm de diámetro a razón de 12,5 ml; obteniendo 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. Obtención, identificación y sembrando en placas de *Bacillus subtilis*

La obtención e identificación de *Bacillus subtilis*, se realizó de acuerdo al protocolo la cepa obtenida fue conservada en refrigeración a 4 °C. Para el momento de su uso se reactivó la cepa en caldo triptosa a 37 °C por 6 horas para luego sembrarla con un hisopo estéril en cada placa Petri servida con agar test a diferentes pH.



3.4.5. Procesamiento de muestras

Las muestras de hígado se retiraron del refrigerador y fueron sometidas a temperatura ambiente por 10-15 minutos. Con el sacabocados de 8 mm de diámetro se obtuvieron cilindros de tejidos de hígado, se seccionaron a 2mm de altura. Los trozos de tejido se colocaron utilizando pinzas estériles sobre los 3 medios sembrados en la placa Petri.

El control estuvo representado por los discos comerciales que contenían a los antimicrobianos, tetraciclinas (30 ug), los cuales fueron colocados, con ayuda de pinzas estériles, en los medios de cultivo con pH 6,0; 7,2 y 8,0 respectivamente. Finalmente se incubaron a 37 °C por 24 horas.

3.4.6. Lectura de resultados

La lectura de los resultados se determinó mediante el tamaño del halo de inhibición del crecimiento de bacterias, se utilizó para ello una regla Vernier digital. La línea considerada como tamaño estuvo comprendida entre el borde del tejido y el inicio del crecimiento bacteriano.

Positivo se consideró una muestra positiva cuando tuvo un halo de inhibición claro y total del crecimiento bacteriano superior a 2mm. Negativo se consideró una muestra negativa cuando tuvo una inhibición del crecimiento bacteriano inferior a 1mm y. Sospechoso se consideró una muestra sospechosa cuando tuvo una inhibición del crecimiento bacteriano de 1 a 2 mm (Gesche, 1986).



3.5. DISEÑO ESTADISTICO

3.5.1. Unidad de análisis

La unidad de análisis lo constituyó cada hígado de pollo comercializado en los centros de abasto de la ciudad de Puno.

3.5.2. Muestra

El tamaño de muestra se determinó aplicando la siguiente formula estadística (Mateu, 2003).

$$\frac{z^2 pq}{B^2}$$

Donde:

n= número de muestra

Z= 1.96 para el 95% de confianza; 2,56 para el 99%.

P= frecuencia esperada del factor a estudiar

q= 1-p

B= precisión o error admitido.

Debido a que no hay trabajos o investigación que nos aporte una se estableció la prevalencia del 50% con un margen de error de 7%.

P = 0,5

q = 0,5

B= 0,07



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

$$n = \frac{(1,96)^2(0,5)(0,5)}{0,07}$$
$$n = \frac{(3,8416)(0,25)}{0,0049}$$

$$n = 196 \text{ muestras}$$

3.5.3. Población

La población del estudio estuvo constituida por el número de hígados de pollos comercializados en los mercados de Puno.

3.5.4. Diseño y análisis estadístico

El diseño consiste en evaluar cada unidad experimental para 3 fármacos (tetraciclina, sulfametoxazol/trimetoprim y gentamicina) con 3 resultados posibles cada sustancia (positivo, sospechoso 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 antimicrobianos representado por la letra P se calculó con la siguiente fórmula: (Jaranilo & Martínez, 2010).

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

Para el intervalo de confianza (IC) se utilizó la siguiente fórmula: (Jaranilo & Martínez, 2010).



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

Donde:

P = porcentaje de presencia obtenido

Z = 1.96

q = 1-p

n = número de muestras.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. RESIDUOS DE ANTIMICROBIANOS EN HIGADOS DE POLLO COMERCIALIZADOS EN CENTROS DE ABASTOS DE LA CIUDAD.

Después de haber analizado las muestras de hígados de pollo mediante la técnica microbiológica de tres placas, para detectar la presencia de residuos antimicrobianos, a continuación, presentamos los resultados obtenidos.

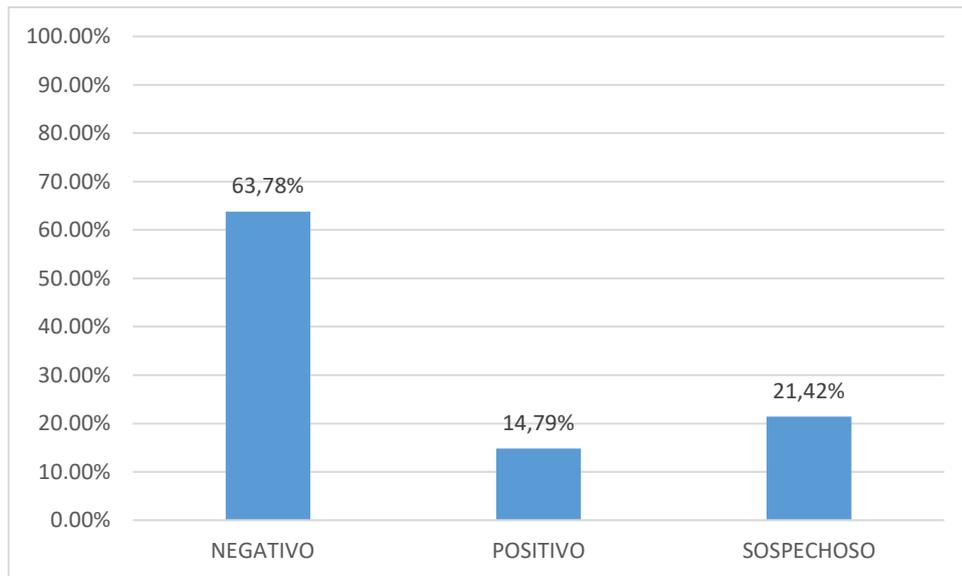
Tabla 2. Porcentaje de hígados obtenidos de los centros de abasto de la ciudad de Puno que resultaron positivos, sospechosos y negativos a la prueba de detección de residuos de antimicrobianos

	Numero de Hígados	porcentaje	intervalo de confianza
NEGATIVO	125	63,78%	±6,73%
POSITIVO	29	14,79%	±4,97%
SOSPECHOSO	42	21,42%	±5,74%
TOTAL	196	100,00%	

Fuente elaboración propia.

En la presente tabla se puede observar que, de un total de 196 muestras, 29 resultaron positivas, haciendo un 14,79%, 42 muestras resultaron sospechosos haciendo un 21,42% y 125 muestras resultaron negativas haciendo un 63,78%. Las muestras consideradas como positivas presentaban al menos un antimicrobiano, cuyos resultados exponemos en la tabla 2 y figura 3.

Figura 3. Hígados positivos y sospechosos a residuos de antimicrobianos



Con el intervalo de confianza de los positivos y sospechosos podemos deducir que son diferentes estadísticamente. Merino (2006) del análisis de 120 hígados mediante el método de las tres placas, obtuvo un 60.83% de positivos cuyo valor obtenido es superior estadísticamente al encontrado en el presente estudio (14,79%), esto probablemente se debe a que las aves estuvieron cumpliendo con los días de tiempo de retiro de tales sustancias.

Orozco (2014) encontraron en Guatemala residuos de antimicrobianos en carne de pollo, obteniendo de 30 muestras un 10% positivas con niveles de residuos mayores a los aceptables (0,25 ppm) establecidos por la administración de alimentos y drogas de estudios, mediante el método de cromatografía líquida de alta resolución, resultado inferior estadísticamente al resultado en la presente investigación (14,79%), tanto en Guatemala como en Perú no controla la presencia de residuos de antimicrobianos en alimentos de origen animal, por lo que se puede decir que en nuestro país se utiliza con mayor frecuencia antimicrobianos al poco tiempo de ser enviados al sacrificio.



En nuestro país existe muy pocos trabajos de investigación sobre residuos de antimicrobianos en aves, así tenemos que, en el trabajo realizado en Lima, Azañero & Chiroque, (2010) analizaron 20 muestras de hígados, encontrando 100% de positivos, además, sostienen que el método microbiológico de difusión de las cuatro placas para detectar grupos antimicrobianos es el más accesible y de bajo costo. Finalmente concluyeron que el tiempo de espera para la eliminación de antimicrobianos no se cumple en las avícolas que proveen pollo a los cuatro mercados que se realizó en dicho estudio. Los resultados obtenidos son muy superiores estadísticamente a los encontrados en este estudio, llegando a la conclusión que en la ciudad de Lima no se respeta el tiempo de retiro de las sustancias utilizadas a comparación de la ciudad de Puno con un porcentaje de 14,79%, haciendo suponer que el uso de antimicrobianos es más controlado en la producción de pollos que se expenden en nuestra ciudad.

En el estudio realizado por (Albújar, 2015) analizaron 196 muestras de los cuales que 68 hígados (34,69%) resultaron positivos, 22 hígados (11,22%) resultaron negativos y 106 hígados (54,08%) resultaron sospechosos a la prueba, llegando a la conclusión de que los hígados de pollos comercializados en el mercado modelo de Piura presentan residuos de los antimicrobianos analizados, y es superior al encontrado en el presente estudio y se debería a la falta de espera del periodo de retiro de los antibióticos utilizados en la producción de pollos.

4.2. RESIDUOS DE TETRACICLINA EN HIGADOS DE POLLO COMERCIALIZADOS EN LOS CENTROS DE ABASTO DE LA CIUDAD DE PUNO.

Las 196 muestras de hígado se procesaron con un medio de pH 6,0; para la determinación de tetraciclinas, 18 muestras se encontraron positivas (9,19%), 136 muestras negativas (69,39%) y 42 muestras sospechosas (21,42%).

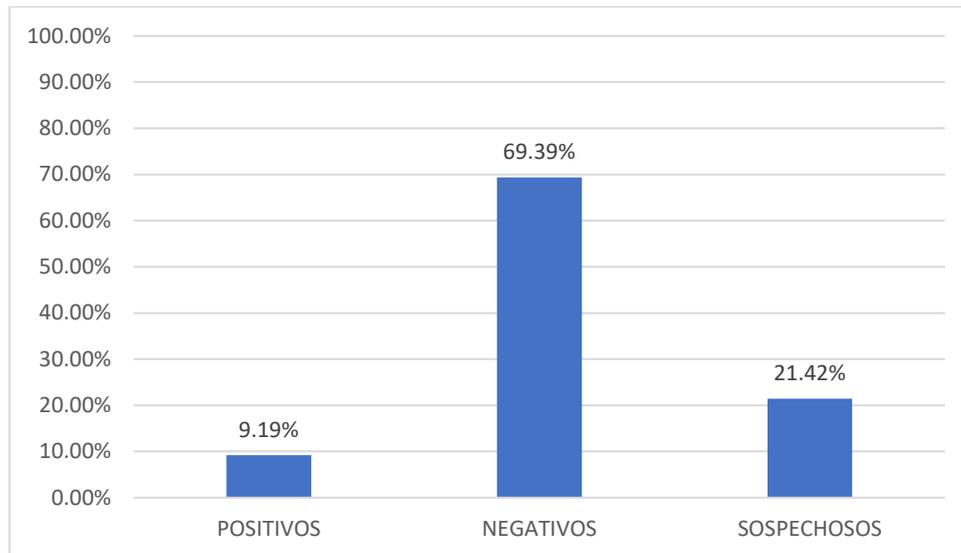
Los resultados positivos, negativos y sospechosos a la detección de tetraciclina (pH 6,0); sulfametoxazol/trimetoprim (pH 7,2) y gentamicina (pH 8,0) en las muestras de hígados analizadas, están representados en la tabla 3 y figura 4. El periodo de retiro de tetraciclina es de cinco días y si hay presencia de residuos es porque no están cumpliendo con el tiempo de retiro (Sumano, 2010).

En el estudio realizado por (Albújar, 2015) con 196 muestras en medio de cultivo con pH 6,0; para la determinación de tetraciclinas, 39 muestras se encontraron positivas (19,89%), 57 muestras negativas (29,08%) y 100 muestras resultaron sospechosas (51,02%), haciendo suponer que el uso de antimicrobianos es más controlado en nuestra ciudad.

Tabla 3. Resultados de la detección de Tetraciclinas (pH 6,0) en muestras de hígados de pollo comercializados en los centros de abastos de la ciudad de Puno

LECTURA	numero de hígados	porcentaje	intervalo de confianza
POSITIVOS	18	9,19%	± 4,04
NEGATIVOS	136	69,39%	± 6,45
SOSPECHOSOS	42	21,42%	± 5,74
TOTAL	196	100,00%	

Figura 4. Hígados positivos, negativos y sospechosos a antimicrobianos en el medio pH 6,0



4.3. RESIDUOS DE GENTAMICINA EN HIGADOS DE POLLO COMERCIALIZADOS EN LOS CENTROS DE ABASTOS DE LA CIUDAD DE PUNO.

Tabla 4. Resultados de la detección de Gentamicina (pH 8,0) en muestras de hígados de pollo comercializados en los centros de abastos de la ciudad de Puno

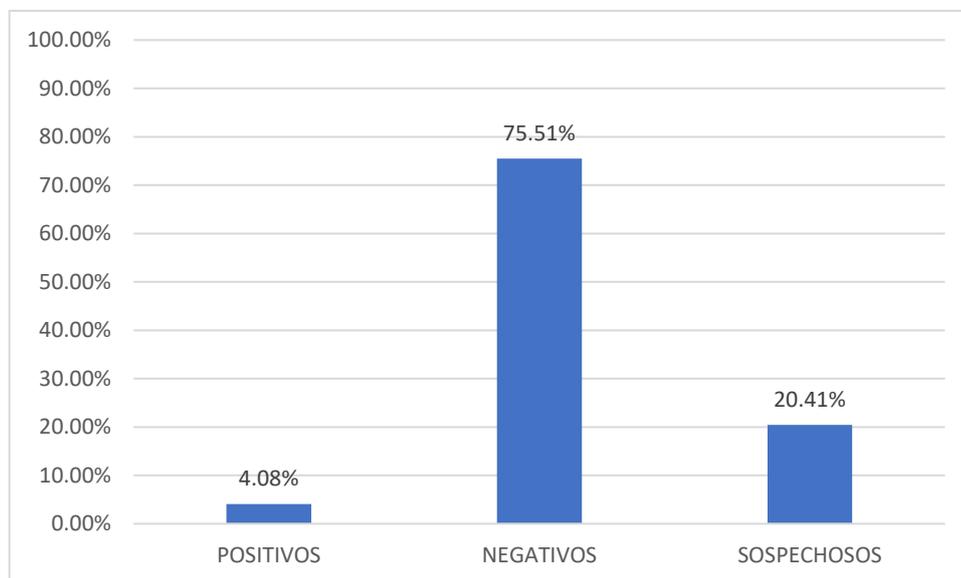
LECTURA	numero de hígados	porcentaje	intervalo de confianza
POSITIVOS	8	4,08%	± 2,77
NEGATIVOS	148	75,51%	± 6,02
SOSPECHOSOS	40	20,41%	± 5,64
TOTAL	196	100,00%	

En la presente tabla se puede observar que, de un total de 196 muestras, 8 resultaron positivas, haciendo un 4,08%, 40 muestras resultaron sospechosos haciendo un 20,41% y 148 muestras resultaron negativas haciendo un 75,51%. Las muestras consideradas como positivas presentaban al menos un antimicrobiano, cuyos resultados exponemos en la tabla 4 y figura 5. El periodo de retiro de Gentamicina es de 36 días y si

hay presencia de residuos es porque no están cumpliendo con el tiempo de retiro (Sumano, 2010).

En el estudio realizado por (Albújar, 2015) con 196 muestras en medio de cultivo con pH 8,0 la determinación de Gentamicina, 14 muestras se encontraron positivas (7,14%), 67 muestras fueron negativas (34,18%) y 115 muestras resultaron sospechosas (58,67%), haciendo suponer que el uso de antimicrobianos es más controlado en nuestra ciudad.

Figura 5. Hígados positivos y sospechosos a residuos de antimicrobianos



4.4. RESIDUOS DE SULFAMETOXAZOL/TRIMETOPRIM EN HIGADOS DE POLLO COMERCIALIZADOS EN LOS CENTROS DE ABASTOS DE LA CIUDAD DE PUNO.

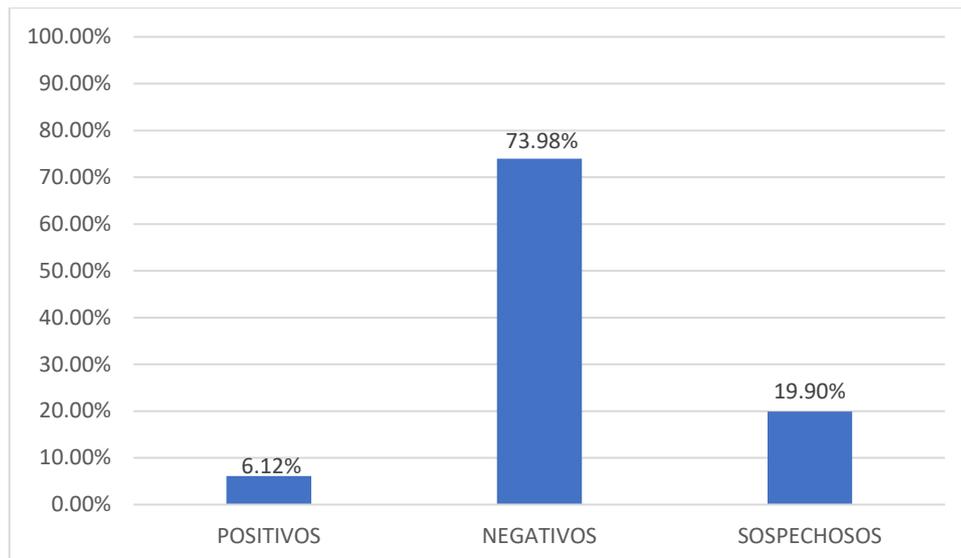
Tabla 5. Resultados de la detección de Sulfametoxazol/Trimetoprim (pH 7,2) en muestras de hígados de pollo comercializados en los centros de abastos de la ciudad de Puno

LECTURA	numero de hígados	porcentaje	intervalo de confianza
POSITIVOS	12	6,12%	± 3,35
NEGATIVOS	145	73,98%	± 6,14
SOSPECHOSOS	39	19,90%	± 5,59
TOTAL	196	100,00%	

En la presente tabla se puede observar que, de un total de 196 muestras, 12 resultaron positivas, haciendo un 6,12%, 39 muestras resultaron sospechosos haciendo un 19,90% y 145 muestras resultaron negativas haciendo un 73,98%. Las muestras consideradas como positivas presentaban al menos un antimicrobiano, cuyos resultados exponemos en la tabla 5 y figura 6. El periodo de retiro de Sulfametoxazol/Trimetoprim es de ocho días y si hay presencia de residuos es porque no están cumpliendo con el tiempo de retiro (Sumano, 2010).

En el estudio realizado por (Albújar, 2015) en el medio de cultivo con pH 7,2; para la determinación de sulfametoxazol/trimetoprim, 34 muestras se encontraron positivas (17,34%), 48 muestras fueron negativas (24,48%) y 114 muestras resultaron sospechosas (58,16%), haciendo suponer que el uso de antimicrobianos es más controlado en nuestra ciudad.

Figura 6. Hígados positivos y sospechosos a residuos de antimicrobianos



4.5. DETECCION DE HIGADOS POSITIVOS EN 1, 2 o 3 MEDIOS CON DIFERENTES pH.

Las muestras analizadas presentaron más de un antimicrobiano, siendo 1 muestras positiva en los 3 medios de cultivo a diferentes pH (3,45%), 7 muestras positivas en 2 medios (24,14%) y 21 muestras positivas en un solo medio de cultivo (72,41%), estos resultados de positivos en 3 medios y un medio están representando en la tabla 4 y figura 5.

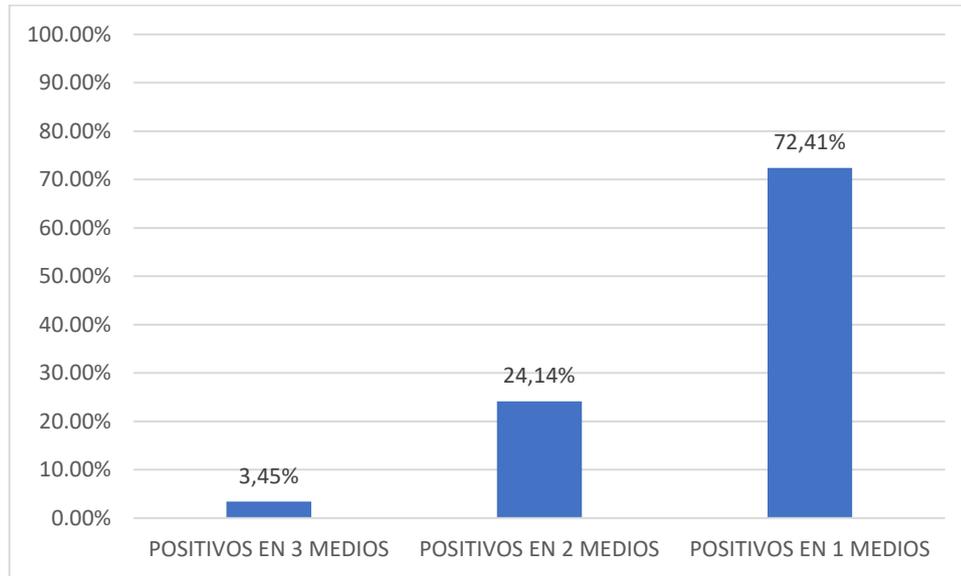
Tabla 6. Resultados de hígados positivos en medios con diferente pH

POSITIVOS	TOTAL RESULTADOS	PORCENTAJE	IC
POSITIVOS EN 3 MEDIOS	1	3,45%	±6,64%
POSITIVOS EN 2 MEDIOS	7	24,14%	±15,58%
POSITIVOS EN 1 MEDIOS	21	72,41%	±16,27%
TOTAL POSITIVOS	29	100,00%	

Las muestras analizadas presentaron más de un antimicrobiano, siendo 1 muestras positiva en los 3 medios de cultivo a diferentes pH (3,45%), 7 muestras positivas en 2

medios (24,14%) y 21 muestras positivas en un solo medio de cultivo (72,41%), estos resultados de positivos en 3 medios y un medio están representando en la tabla 4 y figura 5.

Figura 7. Resultados de hígados positivos a antimicrobianos en diferentes pH.



Con estos resultados se llega a que las muestras procesadas presentaban más de un antimicrobiano, incluso dos muestras resultaron positivas para 3 antimicrobianos.



V. CONCLUSIONES

Se llegó a la conclusión de que hay relativamente una baja cantidad de hígados de pollo comercializados en los mercados de la ciudad de Puno que presentan residuos de los antimicrobianos analizados. Los residuos de antimicrobianos más frecuentes encontrados en los hígados de pollo fueron de tetraciclina, seguidos sulfametoxazol/trimetoprim y gentamicina.



VI. RECOMENDACIONES

Realizar trabajos de investigación utilizando métodos cuantitativos para conocer la concentración de los residuos antimicrobianos que se puedan encontrar en las diferentes carnes o vísceras comercializadas en los mercados y supermercados de Puno.

La técnica microbiológica cualitativa utilizada en el presente trabajo es de gran utilidad para el estudio de residuos de antimicrobianos de carne y vísceras por su confiabilidad, fácil ejecución y bajo costo; se recomienda emplearse como método de rutina en la vigilancia de residuos antimicrobianos en alimentos de origen animal.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, D., Montero, P. M., & Jaimes, J. D. C. (2015). Determinación de antibióticos y calidad microbiológica de la carne de pollo comercializada en Cartagena (Colombia). *Informacion Tecnologica*, 26(1), 71–76.
<https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000100008>
- Aguilar, J. C. (2018). Residuos de antibióticos en canales de bovinos (*Bos taurus*) faenados en el camal municipal de la provincia de Ilave - Puno 2018. Universidad Nacional Del Altiplano.
<https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3276950#.Y36c1Hx6SA0.mendeley>
- Albujar, R. L. (2015). residuos de antimicrobianos 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>
- Alvalos, E. (2008). Determinación de residuos de sulfametazina por el método de inmuno ensayo enzimático absorbente (Elisa) en tejidos de bovinos y cerdo sacrificados en el rastro de Tonalá, jalisco. (Tesis de título profesional) <https://repositorio.cucba.udg.mx>
- Ampuero, J., Morales, S., Ampuero, J., & Morales, S. (2021). Determination of antibiotic residues in muscle, liver and kidney of guinea pigs marketed in four cities of Peru. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 32(1).
<https://doi.org/10.15381/RIVEP.V32I1.19508>



- Avalos, E. (2008). Determinación de residuos de sulfametazina por el método de inmuno ensayo enzimático absorbente (ELISA) en tejidos de bovino y cerdo sacrificados en el rastro de Tonalá, Jalisco.
- 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>
- Berrezueta, B. E. (2019). Incidencia de residuos antibióticos en las carnes de pollo y res procedentes de los mercados de cuenca 2018-2019. Universidad Católica de Cuenca. <https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/8781>
- Cancho, B., Garcia, M. S. & Sima, J (2000). El uso de antibióticos en la alimentación animal. Revista científica y técnica de alimentos, Vol. (3). Recuperado de: <http://webs.uvigo.es/altaga/cyta/cyta-3-2000-39-47.pdf>
- Champi, M. F., & Morales, S. (2022). Determination of sulfamide residues in guinea pig carcasses in sale in the Mantaro Valley, Junín, Peru. Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru, 33(1). <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i1.22160>
- Chávez, E. (2008). Utilidad de una prueba microbiológica en la detección de residuos de sustancias in/inhedoras de crecimiento bacteriano en orina de bovinos. (Tesis inédita de maestría). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima Perú.
- Doylet, K. & Hidrovo L. (2021). Determinación de residuos de antibióticos en muestras de tejidos de origen bovino comercializadas en el mercado central de guayaquil. www.fcq.ug.edu.ec



- Galvez, F., Blacio, M., Quinche, A., & Savedra, M. (2018). Determinación de residuos de tetraciclinas en muestras de carne bovina destinados al consumo humano. *La Técnica*, 20 (Julio-Diciembre), 67-78.
- Gesche, E. (1986). Detección de residuos de antimicrobianos 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#.Y3-OhoPAq8.mendeley>
- Gesche, E., & Emilfork, C. (1998). Residuos de antimicrobianos en canales de vacas. *Archivos de medicina veterinaria*, 30(2), 137-143. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X1998000200014>.
- Guerra Delgado, M. S., & Elena Ojeda, R. N. (2021). Residuos de antimicrobianos en tejido muscular y riñones bovinos comercializados en supermercados de Piura, Perú salud y tecnología.
<https://revistas.upch.edu.pe/index.php/STV/article/view/400>.
- Hidalgo J. & Garza L. (2015). Determinación de residuos antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas en carne e hígado de bovinos faenados en el rastro municipal de Santa Ana, El Salvador. Universidad del Salvador. (Tesis de título profesional). Universidad del Salvador. Recuperado de: <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/8394/>
- Huamán, M., Villegas, L., Canales, M., & Terashima, A. (2022). Determinación de los residuos de triclabendazol en leche de vacas procedentes de dos centros de crianza de ganado destinadas a la producción de derivados lácteos en el departamento de Cajamarca. *Salud y Tecnología Veterinaria*, 10(1), 26–34.
<https://doi.org/10.20453/stv.v10i1.4237>



- Huaranca, F. F. (2018). Determinación cualitativa de residuos de antibióticos betalactámicos en leche fresca bovina, en la microcuenca del distrito de Taraco-Puno. Universidad Nacional del Altiplano.
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/9047>
- Jaramilo, C. & Martínez, J. (2010). Epidemiología Veterinaria. *Editor: manual moderno. Mexico. Pag. 198.*
- Lazarte, F. V. (2022). Resistencia antimicrobiana de bacterias contaminantes en carne bovina extendiendo en los mercados de la ciudad de puno-2022. (Tesis de título profesional) <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/18714>
- Mateu, E. (2003). "Tamaño de muestra". Revista epidemiológica de medición de prevalencia. recuperado de:
[http://www.insbaixcamp.cat/moodle/plugínfile.php/23190/mod_resource/content/1 /C %C3%A01cul% 20de% 20mostres% 20poblacionals.pdf](http://www.insbaixcamp.cat/moodle/plugínfile.php/23190/mod_resource/content/1/C%C3%A01cul%20de%20mostres%20poblacionals.pdf)
- Mendoza, J. C. (2021). Calidad bacteriológica y resistencia antibacteriana de patógenos provenientes de las vísceras de pollo expandidas en tres centros de venta de la ciudad de Puno. Universidad Nacional del Altiplano.
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/15160>
- Merino, T.(2006). Determinacion de residuos de sustancias antimicrobiana en gallinas de postura (tesis de título profesional, Universidad de Guadalajara, Mexico). Recuperado de:
http://revistaiiqb.usac.edu.gt/index.php/revista_cientifica/article/download/158/pdf_151
- Orozco, B., & Velásquez, R. (2014). Determinación de residuos de tetraciclina en carnes de pollo que se consumen en la ciudad de guatemala. (Tesis de título profesional).



Recuperado de:

<https://revistaiiqb.usac.edu.gt/index.php/revista%20cient%20C3%ADfca/article/download/158/pdf%2015%201>

Paredes, F. D. G. (2018). Determinación de residuos de antibióticos por el método microbiológico en canales de bovinos faenados en el camal particular de Azoguite de la ciudad de Puno—2018. Universidad Nacional del Altiplano. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/6949>

Perez, A. (2017). Avicultura provee la mayor fuente de proteína animal. Obtenido de Avinews. Ecuador: <https://avicultura.info/ecuador-avicultura-provee-la-mayor-fuente-de-proteina-animal/>

Perez, J. (2005). Ensayos de familiarización en la técnica de detección de residuos de antimicrobianos y sulfamidas en músculos esquelético animal por el método de las cuatro placas. [Thesis, Universidad de Belgrano. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.]. <http://repositorio.ub.edu.ar/handle/123456789/117>

Soto, J. M. (2022). Presencia de oxitetraciclina en carne bovina en la región litoral del Ecuador. Universidad Católica de Cuenca. <https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/11649>

Sumano, H. (2006). Farmacología veterinaria. 3ra edición, México: Ed McGraw-Hill.

Sumano, H. & Gutiérrez, L. (2010). Farmacología clínica en aves comerciales. 4ta edición, México: Editorial McGraw-Hill.

Talero, Y. V., Medina, O. J., & Rozo-Núñez, W. (2014). Técnicas analíticas contemporáneas para la identificación de residuos de sulfonamidas, quinolonas y



cloranfenicol. In *Universitas Scientiarum* (Vol. 19, Issue 1, pp. 11–28).

<https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC19-1.taci>

Tarazona, J. H., & Morales S. (2021). Determination of tetracycline residues in pork meat from two slaughterhouses in Lima (2018). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 32(6). <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i6.21688>

ANEXOS

ANEXO 1: FOTOS DE TOMAS DE MUESTRAS Y PROCEDIMIENTO

Foto 1. Lugares de venta de hígados de pollo en mercado de puno



Foto 2. Preparación de medios



Foto 3. Ajuste del medio a pH 8.0 con NaOH al IN, utilizando cintas de pH

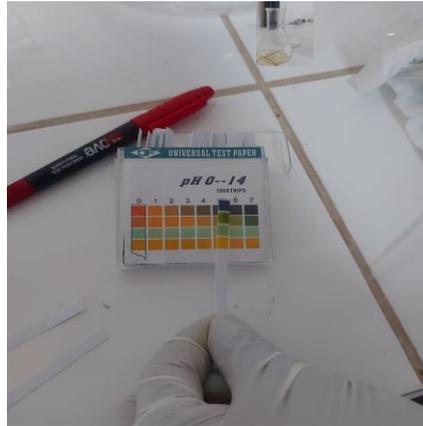


Foto 4. Ajuste del medio a HCL al IN utilizando cintas de pH



Foto 5. Servicio de cultivo en placas Petri.

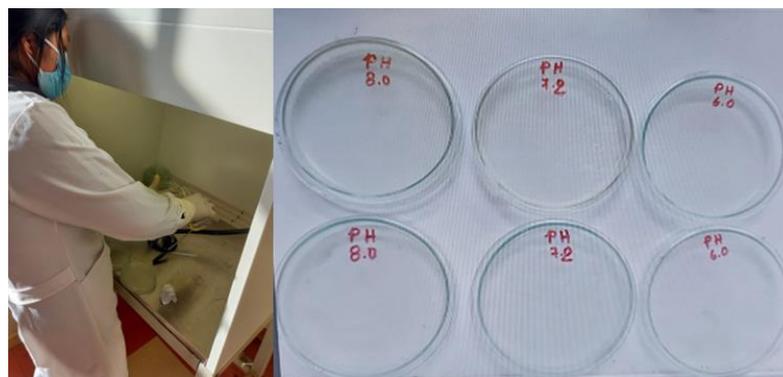


Foto 6. Sembrado de *Bacillus subtilis*



Foto 7. Pegado de discos de antibióticos en medios con pH respectivos

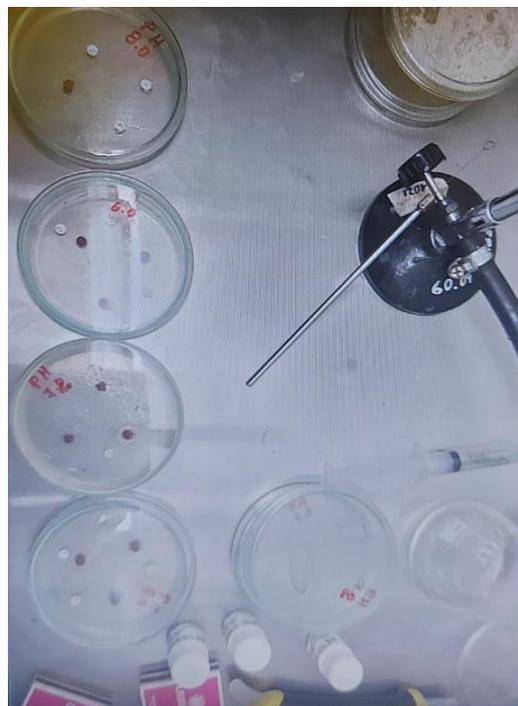


Foto 8. Pegado de hígado en los medios, 3 muestras diferentes de hígados por placa

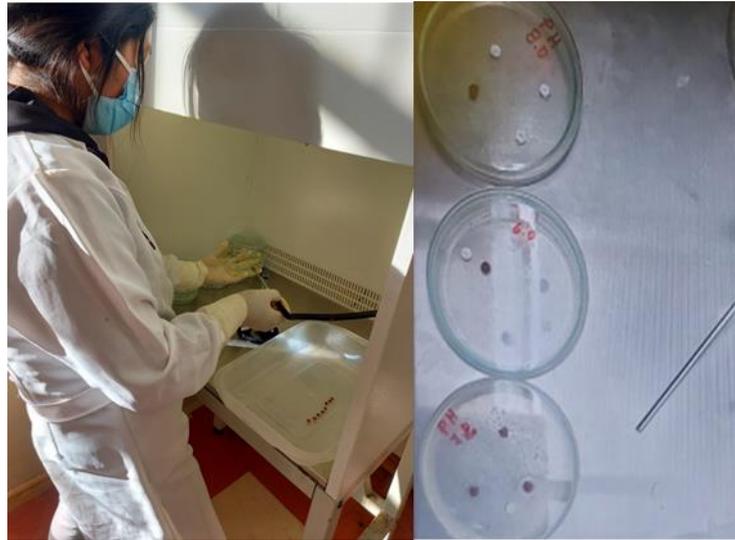


Foto 9. Incubación de medios de cultivos a 30c por 24 horas



**Foto 10. Lectura positiva de resultados, en medio pH 6.0 con un halo inhibición de
3mm**

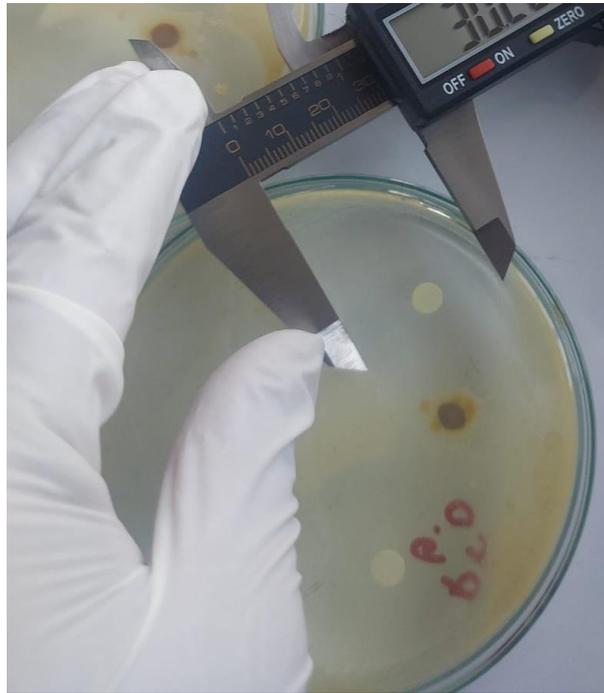


Foto 11. Lectura negativa de resultados, no presentan halo de inhibición



Foto 12. Lectura sospechosa de resultados, con halo de inhibición entre 1 y 2mm

