

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



***DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS POR EL MÉTODO
MICROBIOLÓGICO EN CANALES DE BOVINOS FAENADOS EN EL CAMAL
PARTICULAR DE AZOQUINE DE LA CIUDAD DE PUNO - 2018***

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. Flor de Guadalupe Paredes Vilca.

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2018

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

TESIS

**DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS POR EL MÉTODO
MICROBIOLÓGICO EN CANALES DE BOVINOS FAENADOS EN EL CAMAL
PARTICULAR DE AZOGUINE DE LA CIUDAD DE PUNO - 2018**

PRESENTADA POR:

Bach. Flor de Guadalupe Paredes Vilca

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

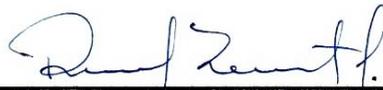


APROBADA POR:

PRESIDENTE:


Dr. ALBERTO CCAMA SULLCA

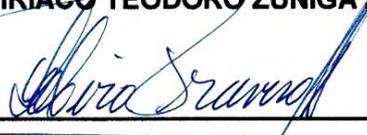
PRIMER MIEMBRO:


M. Sc. MARIO RUBEN ZAVALA GIBAJA

SEGUNDO MIEMBRO:


MVZ. CIRIACO TEODORO ZUÑIGA ZUÑIGA

DIRECTOR / ASESOR:


Dr. CIRO MARINO TRAVERSO ARGUEDAS

Área : Salud pública

Tema : Residuos de antibióticos en canales de bovinos

DEDICATORIA

A mi madre Roxana por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien pero más que nada por su amor.

A mi padre Omar por el ejemplo de perseverancia y el valor mostrado para salir adelante.

A mis tíos María y Patricio, a primos Patricia y Fernando por el apoyo que siempre me brindaron y por el ejemplo que recibí de ustedes para seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

Gracias, de corazón, a mi director de tesis, Dr. Ciro Traverso Arguedas por su paciencia, dedicación, motivación y aliento que ha hecho fácil lo difícil. Y ha sido un privilegio contar con su guía y ayuda.

Gracias a todas las personas de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por su atención y amabilidad en todo lo referente a mi vida como alumna de pregrado.

Gracias a las personas que, de una manera u otra, han sido claves en mi vida estudiantil.

Gracias a los amigos con los que compartí momentos gratos. Nombrarlos sería muy extenso y podría cometer algún olvido injusto, ¡gracias amigos por esta ahí!

Y sobre todo y con amor, gracias a mis padres, tíos y primos por estar incondicionalmente conmigo durante todo este tiempo. ¡Gracias!

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTO	4
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	8
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
I. INTRODUCCIÓN	13
II. REVISIÓN DE LITERATURA	15
2.1. Antimicrobianos en Medicina Veterinaria y Zootecnia	15
2.2. Fines de uso de antibióticos	16
2.3. Residuos de antibióticos veterinarios	18
2.3.1. Definición:	18
2.3.2. Efectos toxicológicos.	18
2.4. Resistencia bacteriana:	19
2.5. Evaluación de residuos de medicamentos:	20
2.6. Métodos de análisis de residuos de antibióticos	22
2.7. Riesgo de usar antibióticos	23
2.8. ANTECEDENTES	26
III. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1. Ubicación:	31
3.2. Muestra	31

3.3.Método Microbiológico de detección de residuos de antibióticos.	32
3.3.1.Principio del ensayo	32
3.3.2.Descripción del ensayo	32
3.4. Procedimiento	33
3.4.1.Equipamiento y materiales	33
3.4.2.Preparación del medio de cultivo	34
3.4.3.Preparación del microorganismo	34
3.4.4.Difusión de microorganismos en las placas	35
3.5. Preparación de la muestra de tejido	36
3.6. Sembrado de las placas	36
3.7. Cultivo de placas	36
3.8. Lectura de placas	36
3.9. Modelo matemático	37
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
V. CONCLUSIONES	58
VI. RECOMENDACIONES	59
VII. REFERENCIAS	60
ANEXOS	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo.	40
Figura N° 3: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según raza.	46
Figura N° 4: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según procedencia	48
Figura N° 5: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo, edad, raza y procedencia.....	53
Figura 6: Bacillus subtilis.....	68
Figura 7: placa con el microorganismo	68
Figura 8: turbidez del microorganismo (McFarland).....	69
Figura 9: placas con cultivo.....	69
Figura 10: obtención de tejido diafragmático	70
Figura 11: obtención de muestra para el sembrado.....	70
Figura 12: sembrado de la muestra	71
Figura 13: cultivo de placas	71
Figura 14: lectura de placas positivas	72
Figura 15: lectura de los halos de inhibición bacteriana.....	72
Figura 16: placa con inhibición de desarrollo bacteriano	73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Residuos de antibióticos en canales de bovinos beneficiados en el camal particular de Azoguite- Puno- enero/febrero 2018.	38
Tabla 2: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo beneficiados en el camal particular de Azoguite- Puno - enero/febrero 2018.	40
Tabla 3: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según edad beneficiados en el camal particular de Azoguite - Puno - enero/febrero 2018.	43
Tabla 4: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según raza beneficiados en el camal particular de Azoguite- Puno - enero/febrero 2018.	46
Tabla 5: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según procedencia beneficiados en el camal particular de Azoguite- Puno - enero/febrero 2018.	48
Tabla 6: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo, edad, raza y procedencia beneficiados en el camal particular de Azoguite- Puno - enero/febrero 2018.	52
Tabla 7: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo, beneficiados en el camal particular de Azoguite - Puno - enero/febrero 2018.	55
Tabla 8: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según edad, beneficiados en el camal particular de Azoguite - Puno - enero/febrero 2018.	55

Tabla 9: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según raza, beneficiados en el camal particular de Azoguine - Puno - enero/febrero 2018..... 55

Tabla 10: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según procedencia, beneficiados en el camal particular de Azoguine - Puno - enero/febrero 2018. 56

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

AN: Agar Nutritivo.

CCE: Comisión de las Comunidades Europeas.

FAO: La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos.

FS: Factor de Seguridad.

HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Resolución.

IDA: Ingestión Diaria Admisible.

LMR: Límite Máximo Residual.

NOEL: Nivel Sin efectos adversos observables

PCA: Agar Plate Count.

PDA: Agar Papa Dextrosa.

UE: Unión Europea.

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en el camal particular de Azoguine de la ciudad de Puno, que queda ubicada a 3824 metros de altitud, con el objetivo de determinar residuos de antibióticos en canales de bovinos (*Bos taurus*) faenados en el camal particular de la ciudad de Puno por el método microbiológico, se examinaron por el método de placa y el *Bacillus subtilis* con 248 muestras de canales de vacunos, de los cuales el 33.10% mostraron ser positivos a residuos de antibióticos, siendo el 32.3% para las hembras en relación a los machos que fue de 0.8%; para los vacunos jóvenes fue de 2.8% en comparación con las hembras que fue de 30.2%, referente a la raza mostro el 32,7% para los de la raza Brown Swiss y solo el 0.4% para el cruce con criollo, referente a la procedencia de los animales fue de 19.4% para los animales que provenían de la zona de Huancané – Taraco, seguido de la zona de Paucarcolla con 9.3% y de Tiquillaca, Vilque y Mañazo que solo mostró el 4.4% de residuos de antibióticos en las canales destinadas para consumo humano en la ciudad de Puno, el desarrollo de los halos por inhibición de crecimiento bacteriano fue de 29,78mm como valor máximo y de 6.56mm como valor mínimo.

Palabras Clave: canales, vacunos, residuos de antibióticos, *Bacillus subtilis*.

ABSTRACT

The research was carried out in the supplementary camal of Azogue city of Puno, which is located at 3824 meters altitude, with the aim of determining antibiotic residues in carcasses of cattle (*Bos taurus*) slaughtered at the abattoir city they fist by the microbiological method, were examined by the plate method and the *Bacillus subtilis* 248 channel samples of cattle, of which 33.10% were shown to be positive antibiotic residues, being 32.3% for females relative to males which was 0.8%; for young cattle it was 2.8% compared to females, which was 30.2%, with respect to the breed, it showed 32.7% for those of the Brown Swiss breed and only 0.4% for the crossbreed with Creole, and regarding the origin of the animals was 19.4% for animals that came from the area Huancané - Taraco followed area Paucarcolla with 9.3% and Tiquillaca, Vilque and Mañazo showed only 4.4% of antibiotic residues in carcasses intended For human consumption in the city of Puno, the development of haloes due to inhibition of bacterial growth was 29.78mm as the maximum value and 6.56mm as the minimum value.

Keywords: carcasses, cattle, antibiotic residues, *Bacillus subtilis*.

I. INTRODUCCIÓN

La aplicación de antibióticos para el control de enfermedades en animales domésticos es una práctica habitual desde que se descubrieron estos antimicrobianos, contribuyendo significativamente en el control de enfermedades del ganado. Posteriormente se han descubierto otros usos de los antibióticos, entre los que destaca su aplicación como promotores del crecimiento, especialmente en la crianza intensiva de animales de carne.

El uso masivo e indiscriminado de antibióticos trae consigo algunas consecuencias negativas como es la generación de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos (Okolo, 1986) y la presencia de residuos en los productos destinados a consumo humano, especialmente huevos, leche y carne (Ortega, 1988).

Al ser consumidas por el ser humano pequeñas dosis de antibióticos presentes en los alimentos, se puede producir hipersensibilidad, de manera que al tratar a las personas sensibles con el antibiótico respectivo se presentan reacciones adversas que van desde un simple prurito hasta el shock anafiláctico (Ortega, 1988). Es por ello que en países desarrollados de Europa y de Norteamérica existe preocupación por la detección de residuos de antimicrobianos en alimentos de origen animal (Nouws, 1981; Livingston, 1985; FDA, 1991).

Si bien existen diversas metodologías de análisis cuantitativo para la detección de inhibidores bacterianos en alimentos, como método de control de rutina se prefiere la aplicación de técnicas microbiológicas de tipo cualitativo que no pretenden más que indicar la presencia o ausencia de algún inhibidor bacteriano. Estas técnicas se han perfeccionado constantemente con el fin de asegurar una

sensibilidad tal que la ausencia de inhibidores detectables asegure la inocuidad del alimento (Nouws, 1981).

Con esta investigación se determinó la presencia de residuos de antibióticos por el método microbiológico en las canales de vacunos faenados en el camal particular de Azoguine de la ciudad de Puno, evaluando las muestras según sexo, edad, raza y procedencia, para detectar la presencia de antibióticos, de esta forma se estará contribuyendo a que se tomen medidas inmediatas a fin de evitar que se expendan canales de bovinos con residuos de antibióticos, que afectan la salud pública de la comunidad que la consume, para lo cual se trazó los siguientes objetivos: Analizar las muestras para detectar la presencia de residuos de antibióticos mediante el método microbiológico en las canales de bovinos faenados en el camal particular de Azoguine de la ciudad de Puno. Evaluar las muestras de canales de bovinos con residuos de antibióticos según sexo, edad, raza y procedencia de los animales beneficiados en el camal particular de Azoguine de la ciudad de Puno.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Los **antibióticos**, provienen del griego **anti** (=contra) y **bios** (=vida), son sustancias medicinales seguras que tienen el valor para destruir o inhibir el crecimiento de organismos infecciosos en el organismo, los que pueden ser bacterias, hongos, o animales minúsculos llamados protozoos”. Los antibióticos son aquellas sustancias producida por microorganismos que tienen acción bacteriostática (multiplicación de las bacterias), o bactericida (matan las bacterias), fungistática o fungicida; ejercen su actividad antimicrobiana. La acción antibacterial de los antibióticos ocasiona un cambio en la capacidad de reproducirse y/o alimentarse, de las células microbianas (Cravzov, 2002).

2.1. Antimicrobianos en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Cuadro 1: Antimicrobianos usados en Medicina Veterinaria y Zootecnia.

GRUPO FARMACOLOGICO	ANTIMICROBIANOS
Quinolonas	Ciprofloxacino Enrofloxacino Norfloxacino
Fenicoles	Derivados del cloranfenicol: Tianfenicol Florfenicol
Macrólidos y Lincosamidas	Tilosina Eritromicina Espiramicina Lincomicina
Tetraciclinas	Oxitetraciclina Clortetraciclina Doxiciclina
Betalactámicos	Amoxicilina Ampicilina
Sulfamidas + Trimetoprima	Sulfadiazina Sulfametoxazol
Amino glucósidos	Neomicina Kanamicina Gentamicina

(Serrano, 2002).

2.2. Fines de uso de antibióticos

- a) **Fines profilácticos:** Sólo para aquellos casos en que esté demostrado su importancia para prevenir una infección; por ejemplo, en ciclos iniciales de crecimiento de animales, especialmente sensibles a agentes infecciosos muy particulares. En estos casos no deberían emplearse antimicrobianos de adquisición reciente ya que en general son menos eficaces como preventivos de infección que los ya existentes y podrían favorecer además, la aparición de resistencias (Anadón, 2007, Díez y Calderón, 1999)
- b) **Fines terapéuticos:** Esta es la forma ideal de tratamiento antimicrobiano, conociendo el germen causal. Es preferible recurrir siempre a antimicrobianos de espectro reducido para poder aumentar la eficacia del tratamiento y reducir el eventual trastorno que el antimicrobiano ejercerá sobre la flora comensal. Se recomienda únicamente la asociación de antibióticos cuando éstos presentan efectos aditivos o sinérgicos (Cancho y col, 2000).

La vía de administración preferida por veterinarios, varía en función de las especies animales, aunque la alimentación mediante piensos adicionados con medicamentos es una de las más usadas a la hora de medicar en los sectores zootécnicos, también se suele utilizar el agua de consumo diario para estos fines; siendo las otras vías de administración: intramuscular, subcutánea, intratecal, tópica o intravenosa (Díez y Calderón, 1999).

- c) **Como promotores del crecimiento:** Desde el descubrimiento en los años 40 de que bajas concentraciones de antibióticos podían mejorar el índice de crecimiento en animales domésticos, compuestos antibacterianos se vienen utilizando ampliamente como promotores del crecimiento en producción animal.

Se han usado diferentes antimicrobianos como promotores del crecimiento observándose una mejora de la conversión en los animales y una reducción de la morbilidad y mortalidad debidas a las enfermedades subclínicas y clínicas. Los antibacterianos promotores del crecimiento pertenecen a diversos grupos de antimicrobianos, no relacionados estructuralmente y ejercen su actividad antibacteriana por diversos mecanismos. Las primeras discusiones sobre el uso de los antimicrobianos como promotores del crecimiento tuvieron lugar en el Reino Unido en el informe Swann; condujeron a un problema de incremento de la resistencia de bacterias de origen animal y humano, particularmente la resistencia de bacterias Gram (-) (*Salmonella* spp. y *Escherichia coli*). En el Reino Unido, el informe Swann propuso que los antimicrobianos usados para la promoción del crecimiento deberían restringirse a que: (1) produzcan una diferencia que fuera económicamente significativa en el desarrollo de la producción animal, (2) tuvieran poca o incluso ninguna aplicación como agentes terapéuticos en los animales y en el hombre, y (3) no afectaran la eficacia de un fármaco terapéutico prescrito a través del desarrollo de cepas resistentes (Montalvo y col, 2004).

Los antimicrobianos promotores del crecimiento comúnmente se adicionan en el pienso o agua que consumen los pollos, pavos, cerdos y ganado vacuno; con el fin de mejorar la ganancia de peso y el índice de conversión de alimentos, los antimicrobianos se incluyen en el pienso a bajas concentraciones, en un rango entre 2,5 y 125mg/Kg. de pienso dependiendo del agente y de las especies tratadas. Los antimicrobianos promotores del crecimiento pueden dar mejoras en la ganancia diaria de peso y en el índice de conversión de alimentos en un orden de 3-5% en pollos de engorde. Además de los beneficios económicos, las

principales ventajas para los ganaderos son mayor uniformidad de crecimiento, estabilización de la flora intestinal en los animales, y mantenimiento de la salud en casos de estrés medioambiental en un grado que se puede decir que estos antimicrobianos promotores de crecimiento actúan profilácticamente, es decir reducen la morbilidad (Díez y Calderón, 1999).

2.3. Residuos de antibióticos veterinarios

2.3.1. Definición:

Son los compuestos que permanecen en el organismo animal como consecuencia de un tratamiento, incluyendo el principio activo original y/o los productos de biotransformación (metabolitos) (Pérez, 2005).

Todos los medicamentos veterinarios, ya sea utilizada con una finalidad terapéutica, profiláctica o de diagnóstico, pueden dejar residuos de sus sustancias madres o compuestos de origen y/o sus metabolitos en los alimentos, esto sucede si no se respetan los modos de empleo oficialmente autorizados, incluidos los períodos de suspensión de tratamiento. Ejemplos: antimicrobianos como las sulfas, los nitrofuranos; antiparasitarios; tranquilizantes; tratamientos hormonales y todo otro medicamento, que se utiliza en la clínica animal. Los efectos de estos residuos pueden ser nulos, si sus cantidades son ínfimas y son consumidos ocasionalmente, hasta tener consecuencias graves, si se ingieren diariamente y se acumulan en nuestros tejidos (Montalvo y col.- 2004).

2.3.2. Efectos toxicológicos.

Los efectos de los residuos no se manifiestan con un problema de toxicidad aguda, nadie se enfermará por consumir “algunas veces” un alimento animal con residuos de medicamentos. La manifestación es a largo plazo, por la ingestión

de pequeñas cantidades de residuos en forma continua y por períodos prolongados (Anadón, 2007).

Pueden englobarse en dos grandes grupos:

a) Efectos directos: Son aquellos producidos por la utilización de antimicrobianos en condiciones terapéuticas. Se manifiestan dentro de amplias y variadas formas clínicas como toxicidad en riñón, hígado, sangre, médula, oído, efectos teratogénicos, carcinogénicos y alergias graves.

b) Efectos indirectos: Están representados por las formas de alergia y los fenómenos de resistencia bacteriana (Cancho y col, 2000).

Alergias: Los antimicrobianos son haptenos, es decir, necesitan estar acoplados a una proteína para comportarse como antígenos capaces de inducir la formación de anticuerpos específicos. La sensibilización no suele depender de la dosis administrada. Los antimicrobianos que se eliminan sin sufrir transformación (por ejemplo, eritromicina, tetraciclinas), aparentan tener escaso poder antigénico. En cambio, los que se desdoblan parcialmente (por ejemplo, penicilinas, estreptomicina, sulfamidas), desempeñan, a menudo, el papel de alérgenos. Se entiende por efectos alérgicos a la reacción clínica de un individuo sensibilizado a una sustancia inocua para algunos, pero que produce un efecto alérgico en su caso personal (Anadón, 2007; Pérez, 2005).

2.4. Resistencia bacteriana:

Es la capacidad adquirida por un organismo para resistir los efectos de un antimicrobiano ante el cual es normalmente susceptible (Pérez De Ciriza y col, 1999).

En los microorganismos patógenos pueden producirse mutaciones para obtener la resistencia a los agentes quimioterapéuticos y, en presencia del medicamento,

la forma mutante tiene una ventaja selectiva y puede sustituir al tipo original de microorganismo. El uso incontrolado de los medicamentos está ocasionando un rápido desarrollo de resistencia a los antibióticos en los microorganismos causantes de enfermedades. La adición de bajas concentraciones de antimicrobianos a los piensos animales estimula el crecimiento del animal, acortando el periodo requerido para poder llevar al animal al mercado. El problema que plantean las bajas concentraciones de antimicrobianos en los piensos animales es que debido al continuo contacto, se selecciona una microbiota que es resistente a los antimicrobianos; por tanto su uso en la alimentación animal expande por la naturaleza el reservorio de genes de resistencia a los antibióticos. Debido a que parte de la biota del intestino de los animales también habita en el intestino humano, la transmisión de biota resistente desde los animales a las personas es una posibilidad real ya que los organismos resistentes pueden infectar a las personas a través de carne contaminada o mediante el contacto con animales vivos (González y col, 2004).

2.5. Evaluación de residuos de medicamentos:

Para la evaluación del riesgo de los residuos de medicamentos animales se toman en cuenta los siguientes parámetros, (Pérez De Ciriza y col, 1999).

- Los estudios de toxicidad llevados a cabo en animales de laboratorio y especialmente por los estudios a largo plazo por ingestión regular del producto, definiéndose así el Nivel Sin Efectos Adversos Observables (NOEL), que es la dosis más alta que no produce efectos adversos observables en la especie más sensible estudiada.
- La Ingestión Diaria Admisible (IDA), que es la cantidad diaria de un determinado residuo que puede ingerir el hombre durante su vida sin riesgo

para la salud. Se calcula dividiendo el NOEL por un Factor de Seguridad (FS), que se fija arbitrariamente, teniendo en cuenta el grado de certeza con los resultados toxicológicos pueden extrapolarse a los humanos.

Teniendo en cuenta los dos parámetros anteriormente mencionados se define un Límite Máximo de Residuos (LMR), que es la concentración máxima de un residuo aceptable en un alimento y se calcula tomando la IDA, multiplicándola por un peso persona promedio de 60 Kg. y dividiendo esa cifra por la ingesta media diaria del alimento considerado. Cuando se establece un LMR para una sustancia, se especifica en qué tejido deben cuantificarse los residuos y cuáles son los compuestos que deben analizarse. Se define como tejidos marcadores (músculo, hígado, riñón, grasa) a aquel para el cual se fija el LMR y que debe ser analizado a los fines de control de residuos. Frecuentemente es el tejido en donde los metabolitos permanecen un tiempo prolongado (Medina, 2008).

Para garantizar que la concentración residual de los antibióticos no sea superior a su correspondiente LMR, se hace necesario establecer un tiempo de espera. Este tiempo de espera es el plazo de tiempo que debe transcurrir y ser respetado, desde el último tratamiento farmacológico hasta el sacrificio de los animales para poder consumir la carne o recoger sus productos (leche, huevos) para su comercialización e ingestión (Montalvo y col, 2004).

En la actividad ganadera se usa una gran variedad de productos farmacológicos, dentro de los cuales están los antibióticos con el fin terapéutico de controlar enfermedades bacterianas. La mayoría de estos productos tienden a depositarse en órganos y tejidos de los animales tratados, constituyendo un grave riesgo para la salud de los consumidores, sobre todo cuando no se respeta el tiempo de retiro recomendado por el fabricante. Entre los efectos nocivos relacionados

con esta práctica, se incluyen reacciones de hipersensibilidad, resistencia bacteriana, alteración de la microbiota intestinal, nefropatía y hepatotoxicidad (Rico y Ferraro, 1999).

El *Codex Alimentarius*, es el punto de referencia internacional más importante en cuanto a los límites máximos permitidos de antibióticos expresados en $\mu\text{g kg}^{-1}$, que pueden estar presente en tejidos de animales destinados al consumo humano, permitiendo asegurar la calidad e inocuidad de los alimentos (Codex, 2012)

2.6. Métodos de análisis de residuos de antibióticos

Método microbiológico de difusión de las cuatro placas:

Este método fue desarrollado por el equipo de trabajo de la Comisión Científica de Veterinaria de la Comisión de las Comunidades Europeas (CCE) en colaboración con expertos de nueve estados miembros de la misma comunidad, aproximadamente en el año 1980. El resultado de este equipo de trabajo fue un método microbiológico estandarizado altamente sensible. El método propuesto es un test de difusión de agar de cuatro placas, en el cual se utilizan dos microorganismos diferentes (*Bacillus subtilis* y *Micrococcus luteus* ATCC). En realidad el test se basa en otros tests ya existentes, siendo el nuevo elemento la placa que contiene Trimetoprima y *Bacillus subtilis*, con el fin de detectar los residuos de sulfamidas. Básicamente, el test de residuos de antibióticos de la CCE es una combinación del Test alemán: «AH-Test», del test «*Sarcina lutea*» (modificado a pH 8) y una variante del test existente para sulfonamida (Mendo, 1995).

En el test de «*Sarcina lutea*» por Van Schothorst, M. en 1970; se dispensa una placa con *Sarcina lutea* ATCC 9341, ajustada a pH 6,0; luego se coloca un papel de filtro de diámetro de 1,2cm sobre el riñón cortado por unos 30 a 60 minutos, se extrae el papel con una pinza y se coloca sobre la placa. Se incuba 18 a 20h a 37°C y se lee el diámetro de inhibición. El test de sulfonamida de Gudding, R. en 1976; método bacteriológico para la detección de residuos de sulfonamidas en alimentos; se basaba en la adición de trimetoprina al medio Mueller-Hinton. La cantidad de trimetoprina adicionada va a depender de la bacteria utilizada *Micrococcus luteus*, *Bacillus stearothermophilus* o *Bacillus megaterium*. Este trabajo tuvo la finalidad de comprobar que los efectos de sinergia de las sulfonamidas y la trimetoprina aumenta la sensibilidad del test (Fernandez, 2007).

El método de las cuatro placas se basa en el cultivo de un microorganismo en agar que tiene sensibilidad frente a un antimicrobiano o grupos antimicrobianos determinados que se encuentran como residuos en los tejidos de origen animal o en sus productos (Fernandez, 2007).

Esta técnica puede ser modificada, para conseguir un amplio espectro de identificación, aumentando una placa con otro grupo de antimicrobianos para ello se juega con la siembra en agares de distinta composición y pH por ejemplo para quinolonas adicionando E.coli como bacteria a ser inhibida y el medio nutritivo a pH 7.2 (Manger, 2009).

2.7. Riesgo de usar antibióticos

Se calcula que 70% de los medicamentos antibióticos que se suministran en Estados Unidos son para los animales destinados al consumo humano. Y

muchas veces el uso de estos fármacos no está dirigido al tratamiento de infecciones, sino para promover el crecimiento de los animales o mejorar su resistencia a enfermedades. Según la FDA este "uso excesivo" está contribuyendo significativamente a la resistencia que las bacterias han desarrollado a estos medicamentos. Recientemente la Organización Mundial de la Salud declaró que la resistencia humana a los antibióticos está provocando que los medicamentos disponibles actualmente en el mundo sean inútiles. Según la organización, estamos enfrentando "el fin de la era de la medicina segura". Ahora la FDA está pidiendo a veterinarios, ganaderos y productores de animales "que usen juiciosamente los antibióticos médicamente importantes" en los animales productores de alimentos, limitando su uso al combate de enfermedades o problemas de salud. Tal como explicó a BBC Mundo la doctora Nora Mestorino, profesora de medicina veterinaria de la Universidad Nacional de La Plata, en Argentina, "un uso irracional de los antibióticos es cuando se utilizan cuando no es necesario, o se usan en dosis muy bajas o en tiempos muy cortos con los cuales no se atacan todas las bacterias". "Entonces cuando un grupo de bacterias queda vivo comienza a implementar diferentes mecanismos para defenderse de ese compuesto químico. Es un proceso lógico de supervivencia que provoca la multiplicación de esas bacterias". Estas bacterias posteriormente transfieren sus mecanismos de defensa y resistencia e incluso pueden transferirlos a otros microorganismos y a otras especies de bacterias y al medio ambiente. "Es decir, se produce una transferencia de la resistencia del animal, al medio ambiente y al hombre" agrega la investigadora. "Esto ha provocado que los microorganismos desarrollen multiresistencias, es decir mecanismos de

resistencia a diferentes grupos antibacterianos y esto está haciendo muy difícil poder contar con un antimicrobiano eficaz" (Navas, 2012).

Alimentando cerdos con desechos de fermentación de tetraciclinas, se descubrió que esos cerdos crecían más que los que recibían otros alimentos. Al asociarse la respuesta lograda con el origen del alimento, se estaba descubriendo la capacidad de los antibióticos a contribuir en el crecimiento de los animales, mejorando los índices de conversión, esto es, crecer más con la misma cantidad de alimento. Este es el inicio histórico del uso de 26 antibióticos como promotores del crecimiento cuando son adicionados en cantidades subterapéuticas a los alimentos. Los grupos de antibióticos que, en general se utilizaban para este fin eran penicilinas y tetraciclinas. Algunos años más tarde, comenzó a surgir preocupación por la aparición de cepas resistentes a estos antibióticos de salmonellas aisladas de terneros con enfermedad respiratoria. Sin embargo la utilización de quimioterápicos como promotores del crecimiento, ha continuado hasta nuestros días con buenos resultados y generando una discusión, durante los últimos años (FAO, 2004).

A finales de los sesenta surgieron las primeras voces de preocupación sobre el incremento de la resistencia y la posible relación con el consumo de antibióticos como promotores del crecimiento. Solamente podrían ser empleados como promotores aquellos antibióticos que tuvieran un efecto demostrado sobre el crecimiento animal, que fueran activos frente a bacterias Gram positivas y que no presentaran absorción intestinal para prevenir la presencia de residuos en la carne. Se decidió eliminar como promotores aquellos antibióticos que también fueran utilizados en la medicina humana o animal (Zarazaga y Torres, 2002).

2.8. ANTECEDENTES

Existen actualmente muchos estudios realizados que evidencian la presencia de residuos antibióticos en carnes de consumo masivo, así como diversos métodos para detectar y cuantificar dichos residuos por ejemplo el estudio de residuos de enrofloxacin en tejido hepático y muscular de pollos beneficiados en el municipio San Francisco del Estado Zulia, Venezuela, donde utilizaron como método, para cuantificar, la cromatografía líquida de alta resolución la cual dio resultados por encima de los límites permitidos de residuos (3810 ug/Kg de músculo pechuga) para la enrofloxacin miembro de la familia de las quinolonas uno de los grupos farmacológicos más usados en medicina avícola (Molero-Saras y col, 2006).

Además se puede mencionar el estudio realizado sobre la estabilidad de sulfametazina en carne y productos cárnicos de cerdo tratados térmicamente donde utilizaron el método por HPLC y se comprobó que la sulfametazina se mantenía estable ante diversos tratamientos térmicos por lo que es importante mantener este residuo por debajo de los límites máximos permitidos (González y col, 2004).

Cabe mencionar el estudio de detección de residuos antimicrobianos en tejidos comestibles y tetraciclinas en hueso de cerdo, del Matadero Municipal de la zona Metropolitana de Guadalajara- México, donde utilizaron como método para detectar grupos de antimicrobianos, el método microbiológico de tres placas donde obtuvieron 66% de las muestras de hígado positivas para la placa pH 7.2 lo que quiere decir que el cerdo contenía en su mayoría sulfonamidas y para la muestra de hueso de cerdo, 81% fueron positivos lo que indicó que existía un elevado porcentaje de cerdos con residuos de tetraciclinas y sustentó además el

envío frecuente al matadero de estos animales con residuos de antimicrobianos (Medina y col, 2008).

En Chile se aplica la detección de residuos de antibióticos y sulfamidas a los productos de exportación; sin embargo, el Reglamento Sanitario de Alimentos (MINSAL-Chile, 1997) aún no contempla su determinación para los alimentos de consumo nacional. Existe el antecedente de un trabajo realizado en el año 1984, en que se analizaron mil canales de bovinos en diferentes mataderos de la Región, en el cual se encontró un 0.1% de canales positivas a residuos de antimicrobianos (Montes, et al, 1985).

Con la finalidad de conocer la presencia de residuos de antibióticos y sulfamidas en animales de abasto, se analizaron las canales de 300 vacas faenadas en una Planta Faenadora de Carnes de la X Región de Chile. Para ello se obtuvieron muestras de tejido muscular diafragmático y de riñón que fueron examinadas por el método microbiológico que emplea *Bacillus subtilis* como cepa sensible, en un substrato de cultivo a tres niveles de pH. Del análisis de las 300 canales, resultaron 13 vacas positivas (4.3%) a la detección de antimicrobianos de los cuales 6 casos correspondieron a vacas de faenamiento normal (2.3%) y 7 muestras a vacas de faenamiento de urgencia (17.1%). Entre las causas más frecuentes de faenamiento de urgencia que presentaron residuos de antibióticos está la mastitis (4 de 10), seguida de cojera (2 de 7) y cuerpo extraño (1 de 7). Cotejando los resultados obtenidos en este estudio, con el criterio de decomiso aplicado en otros países, habría correspondido a decomiso total el 2% de la totalidad de las vacas faenadas en el período de muestreo. Considerando las vacas clínicamente sanas y aquellas de faenamiento de urgencia como poblaciones separadas, el decomiso total habría afectado a un 1.5% de las vacas

sanas y a un 4.9% de las vacas de faenamiento de urgencia (Gesche y Emilfork, 1996).

En una investigación en el camal de Santa Rosa, Ecuador, se encontró residuos de antibióticos en canales de animales provenientes de 5 cantones diferentes, de los cuales dos dieron resultados negativos, haciéndose evidente el uso frecuente de antibióticos en las ganaderías de varios cantones del país, que no realizan un periodo de retiro adecuado. En relación al sexo, no se encontraron diferencias significativas entre los porcentajes de antibióticos encontrados en las canales de machos y hembras (Flores, 2016).

Se pudo determinar la presencia de antibióticos en el 82 % de las canales analizadas, en menor porcentaje (37%), encontró muestras positivas a antibióticos como penicilina, gentamicina y estreptomina, en carne obtenida de terneras en la ciudad de Quito. El alto porcentaje encontrado en la investigación puede deberse al espectro de acción del kit Premi Test, que detecta antibióticos de las familias sulfonamidas, betalactámicos, aminoglucósidos, macrólidos y tetraciclinas. Se comprobó también la presencia de antibióticos en la carne de animales provenientes de las cuatro provincias que abastecen a este centro, siendo la provincia de Loja la que presentó menor porcentaje (Granda, 2015).

Por otro lado, los estudios realizados con respecto a la presencia de residuos de antibióticos en músculo de animales de consumo masivo es cada vez más frecuente utilizando para ello métodos tanto microbiológicos como cuantitativos, por ejemplo: En primer lugar tenemos el método microbiológico de difusión en placas ha sido desarrollado con el fin de detectar residuos de sustancias antibacteriales en productos de origen animal y es aplicado como método de

control en los países que exportan a la Unión Europea (UE). Este método permite detectar un amplio rango de grupos de antimicrobianos en un corto tiempo (24 horas) y con un bajo costo además de poder ser modificado agregando placas de acuerdo a la conveniencia del análisis (Pérez, 2005; Fernandez, 2007; Kilinc, 2007).

El uso de antimicrobianos como tratamiento terapéutico o profiláctico en animales de consumo masivo, como aves de corral (pollos), actualmente es de vital importancia para la industria avícola ya que permite promover el crecimiento y crianza intensiva de dichos animales así como garantizar productos sanos y de “ calidad ”, pero cuando se utilizan de forma abusiva sin atender a los principios de la buena práctica veterinaria, la presencia de residuos en los alimentos representa un grave riesgo para la salud pública ya que podrían generar en los consumidores resistencia bacteriana y alergias provocando problemas médicos y veterinarios. El presente estudio, siguiendo la recomendación de las medidas de control del Consejo de las Comunidades Europeas, realizó un muestreo de carne de pollo en cuatro zonas comerciales: Mercado Central, Supermercado Metro, Mercado Eco, Mercado La Aurora en Lima cercado, donde se tomaron cinco muestras de cada mercado, teniendo un total de veinte muestras. La metodología empleada para detectar la presencia o ausencia de residuos de antibióticos tuvo como referencia el método microbiológico de difusión de las cuatro placas, para luego cuantificarlos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Los resultados obtenidos por ensayo microbiológico fueron positivos ya que se obtuvo halos de inhibición en al menos una de las placas ensayadas de cada muestra de 2mm de ancho. Por el método cuantitativo por HPLC se obtuvieron resultados que sobrepasan el Límite Máximo de Residuos

(LMR) para sulfametoxazol en 75% de las muestras (mayor a 100ug/Kg de músculo), para norfloxacinó en 100% de las muestras (mayor a 100ug/Kg de músculo) y para ciprofloxacino en 50% de las muestras (mayor a 100ug/Kg de músculo) (Azañero, 2010).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación:

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el centro de beneficio de Azogue de la ciudad de Puno, de donde se obtuvieron las muestras de tejido diafragmático de las canales de vacunos, que fueron beneficiados en los meses de enero y febrero. Las muestras de tejido diafragmático fueron remitidas al laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNA PUNO, que queda ubicada a 3824 metros de altitud.

3.2. Muestra (Método de probabilidades) (Quintana, 2009)

$$M = \frac{N \times z^2 (p.q)}{e^2 (n-1) + z^2 (p.q)}$$

Donde:

N= tamaño de población (697 animales beneficiados por mes).

z²= nivel de confianza al 95% (1.96).

p= probabilidad de residuos de antibióticos (50%).

q= diferencia de probabilidad de residuo de antibióticos (50%).

e²= error experimental (5%).

$$M = \frac{697 \times 3.84 \times 2500}{25(696) + 9600} = 247.8 \text{ (248).}$$

- De los vacunos faenados, en los meses de enero a febrero se obtuvieron las muestras de tejido diafragmático habiéndose obtenido 248 muestras.
- Las muestras de tejido muscular, preferentemente de la zona del diafragma, libres de grasa y de aponeurosis de animales recién beneficiados, fueron colocados en bolsas de polietileno y refrigeradas inmediatamente a -18°C, al ser colocadas en cooler, el cual contenía hielo.

- Cada muestra fue registrado a través de un rótulo que fue elaborado por el ejecutor de la investigación.
- Las muestras de diafragma refrigeradas fueron trasladadas en el cooler isotérmico al laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, para ser sometidas al análisis de presencia de residuos de antibióticos aplicando la técnica microbiológica del *Bacillus subtilis* como cepa sensible, de acuerdo a la metodología descrita por Gesche (1996).

3.3. Método Microbiológico de detección de residuos de antibióticos.

Técnica de difusión en placa

3.3.1. Principio del ensayo

Este método es aplicable a músculos esqueléticos de animales de carnicería y tiene el objetivo de evidenciar la presencia de residuos antimicrobianos pero, no permite determinar la identidad del residuo inhibidor. La técnica se basa en la difusión de los residuos antimicrobianos presentes de la muestra de tejido animal que se pone en contacto con un medio de cultivo inoculado con microorganismos inhibiendo su crecimiento y dando lugar a la formación de zonas de inhibición.

3.3.2. Descripción del ensayo

Se coloca en una placa Petri el medio de cultivo sólido (agar peptona de caseína – glucosa – extracto de levadura) con microorganismos sensible a los antimicrobianos, sobre este medio se colocó un trozo de muestra y la placa se incubo a la temperatura de desarrollo óptimo del microorganismo. Si la muestra contiene residuos de antimicrobianos en cantidades detectables, éstos inhiben el desarrollo de los microorganismos con lo cual se observa una zona de inhibición alrededor de la muestra.

3.4. Procedimiento.

3.4.1. Equipamiento y materiales.

- Estufa de incubación a 37 ± 1 °C.
- Congelador con temperatura igual o menor a -18 °C ± 1 °C.
- Balanza Digital Mettler Toledo a 10mg.
- Autoclave Calibrada.
- Cámara de flujo laminar.
- Mechero de Bunzen.
- Placas de Petri de 10 cm de diámetro.
- Matraces de 125 y 250mL.
- Tubos de ensayo de 16 x 160mm.
- Agua destilada.
- Hornilla eléctrica.
- Papel de aluminio.
- Pabilo de algodón de 6 cabos.
- Papel Craff.
- Sacabocado 2mm de diámetro y 2cm de largo.
- Asa de Kolle de acero inoxidable.
- Pinza simple de disección.
- Estilete recto.
- *Bacillus subtilis*.
- Calibrador de Vernier Profesional Trupper.
- Lapicero de tinta indeleble.
- Algodón.
- Alcohol al 95%.

3.4.2. Preparación del medio de cultivo.

- Se pesó 22,5gr del medio de cultivo para 1000ml de agua destilada.
- Se colocó en el matraz el medio de cultivo, para agregar agua destilada y ser colocada sobre la hornilla.
- Se esperó que ebullicione de 2 a 3 veces.
- Luego se tapó con algodón y papel aluminio atado con pabito de algodón.
- Se colocó en la autoclave a 15lb de presión por 15min a 121°C.
- Luego se retiró de la autoclave para ser llevado a la cámara de flujo laminar, el medio de cultivo mostro un pH de 7.0.
- Se depositó en las placas de Petri en una cantidad de 10 a 15ml. aproximadamente; se dejó enfriar en la misma cámara de flujo laminar por un lapso de 24 horas.
- Se realizó el control de calidad, en la placas con medio de cultivo no debe haber ningún desarrollo bacteriano.

3.4.3. Preparación del microorganismo.

Bacillus subtilis:

El aislamiento se llevó a cabo por medio de la suspensión aséptica de 1g de muestra de bioinsumos en 5mL de agua destilada estéril, con agitación vigorosa en vortex por 20s (Solución madre). A partir de la solución madre antes preparada, se tomó 0.1mL que se inoculó y esparció con espátula de Drigalsky en placas Petri con medios Agar Papa Dextrosa (PDA), Agar Plate Count (PCA) y Agar Nutritivo (AN) e incubadas a 35°C durante 24 h para bacterias, con el propósito de aislar la mayor cantidad posible de microorganismos cultivables (Benítez et al., 2007; Badía et al., 2011; Cuervo, 2010). Transcurridos los tiempos antes indicados, las placas fueron observadas al contador de colonias con lupa

de aumento y se diferenciaron por el color y forma de las diferentes colonias bacterianas. Las colonias bacterianas fueron llevadas a placas Petri con medio AN, por agotamiento para su purificación. Finalmente se observaron las placas al estereomicroscopio para definir la uniformidad visual a un mismo tipo de colonia (Badía et al., 2011; Cuervo, 2010).

Se tomó una muestra representativa de cada aislado bacteriano para realizarles tinción Gram siguiendo el procedimiento descrito por (Moreno & Albarracín 2012) y observarlas al microscopio con el objetivo 100X y aceite de inmersión; esto para determinar las bacterias Gram positivas y la forma de las colonias. Además se realizaron las pruebas bioquímicas para identificar al *Bacillus subtilis*, que son bacilos Gram positivos, anaerobios facultativos, forman una espora central que no deforma a la célula bacteriana.

Tinción de Wirtz: la tinción permitió observar la presencia de endosporas bacterianas, ya que los constituyentes de esta estructura retuvieron fuertemente el colorante verde de malaquita al 7.6% tomando un color verde, y posteriormente se tiñó con safranina al 0,25% para que nos dé un contraste a la célula bacteriana (Valenzuela, 2003).

3.4.4. Difusión de microorganismos en las placas.

- Para la difusión de microorganismos, primero se determinó la turbidez del medio de dilución mediante el método de McFarland, que consistió en realizar suspensiones bacterianas ajustadas a un patrón, que en el presente trabajo se usó el 0,5 McFarland, para esto se tomó una muestra bacteriana y la inoculamos en un tubo con solución salina, en el momento en que se produjo un poco de turbidez ya estamos en el 0,5 (de forma visual) (McFarland, 1907).

- De la dilución de McFarland, en cada placa con medio de cultivo, se difundió aproximadamente entre 1 a 1.5cm del microorganismo, el cual fue homogenizado en toda la superficie del medio de cultivo.

3.5. Preparación de la muestra de tejido.

- En una placa Petri vacía y estéril se rotularon de acuerdo a la identificación de cada muestra de tejido diafragmático.
- Las muestras de tejido diafragmático se extrajeron del cooler para obtener de ella una muestra de 2mm de diámetro por 2.5mm de alto aproximadamente, el cual se obtuvo mediante el uso de un sacabocado.
- La muestra de 2mm se colocó sobre la placa de Petri vacía rotulada.

3.6. Sembrado de las placas.

- Las muestras de 2mm que estuvieron en las placas de Petri se llevó a la cámara de flujo laminar.
- En las placas con difusión de microorganismos se procedió a sembrar las muestras de 2mm, que también en ellas se tuvo que rotular las muestras sembradas.

3.7. Cultivo de placas.

- Las placas sembradas con 5 muestras de tejido diafragmático, fueron llevados a la estufa a 38°C por el lapso de 24 horas.

3.8. Lectura de placas.

- Cultivadas las placas después de 24 horas se hizo la lectura de las muestras que inhibieron el crecimiento del *Bacillus subtilis*; cada halo de inhibición fue medido en mm con el calibrador de Vernier, considerando el diámetro del halo de inhibición y se registró cada medida.

El Resultado Positivo, se determinó de acuerdo a los milímetros de inhibición de crecimiento bacteriano manifestado por Azañero (2010):

<i>PENICILINA</i>			
S.M	1/1000	1/50	1/25
(1000UI/mL)	(1UI/mL)	(0,02UI/mL)	(0,0008UI/mL)
20 mm	15 mm	10 mm	6 mm
<i>ESTREPTOMICINA</i>			
S.M (250UI/mL)			1/25 (10UI/mL)
14 mm			6 mm
<i>SULFAMETOXASOL</i>			
S.M (1mg/mL)			1/20 (0.05mg/mL)
10 mm			4 mm
<i>ERITROMICINA</i>			
S.M (1000UI/mL)	1/25 (40UI/mL)	1/50 (0,8UI/mL)	
13 mm	8 mm	3 mm	

S.M = Solución Madre
A/B = Diluciones
Se considera positivo > ó = 2mm.

3.9. Modelo matemático

El modelo que se utilizó para la determinación de residuos de antibióticos en las canales de vacunos según edad, sexo, raza y procedencia, fue la prueba de Ji cuadrada, por lo que el modelo matemático fue el siguiente.

$$\chi^2 = \sum \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$$

Para la determinación de la distribución de frecuencia del tamaño de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano en canales de bovinos según la edad, sexo, raza y procedencia se utilizó el análisis de varianza de un solo factor, habiéndose utilizado el SPSS, versión 21.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANÁLISIS DE LOS RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN CANALES DE BOVINOS.

Tabla 1: Residuos de antibióticos en canales de bovinos beneficiados en el camal particular de Azogueine- Puno- enero/febrero 2018.

N° de animales beneficiados	N° de animales negativos	% de negativos	N° de animales positivos	% de positivos	% total
248	166	66.90	82	33.10	100.00

En la tabla 1 se muestra los canales positivos a residuos de antibióticos, que representa el 33.10% de 248 canales evaluadas con el 66.90% de canales negativos.

De estos resultados deducimos que un porcentaje considerable tiene residuos de antibióticos en las canales que son expendidos en los diferentes mercados de la ciudad de Puno los cuales estarían afectando la salud pública de la población que la consume; es así que Montes, et al (1985) encontró el 0.1% de canales de bovinos positivas a los residuos de antimicrobianos, estos resultados son del país de Chile por lo que el porcentaje hallado no coincide con lo del presente trabajo de investigación, esto probablemente se deba a que en Chile el nivel de responsabilidad sobre el uso de antibióticos y la aplicación de antibióticos sea restringido en los centros de engorde, hace que se expendan canales con un porcentaje mínimos de residuos de antibióticos; a diferencia que la X región de Chile se obtuvo el 4.3% de canales con residuos de antibióticos

(Gesche y Emilfork, 1996), valores inferiores a los hallados en nuestro estudio, que también atribuimos a la responsabilidad de los criadores y personal médico veterinario en la que hace el uso irracional de la administración de antibióticos, que comparando con lo obtenido en las canales de bovinos beneficiados en la ciudad de Puno, que muestra un porcentaje de 33.10%, es un valor preocupante el cual refleja que el uso indiscriminado de antibióticos en animales que están destinados a consumo humano, por parte de criadores, personal técnico o bien profesionales, acarreando problemas de salud pública en nuestra población, que esta se refleja con la resistencia a los antibióticos, y para que no se presente este hecho, es importante mantener los residuos de antibióticos por debajo de los límites máximos permitidos, sin que afecta a la salud humana, estando de acuerdo con lo que manifiesta Gonzales y col (2004), y según la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) manifiesta que el uso excesivo de antibióticos está contribuyendo significativamente a la resistencia que las bacterias han desarrollado a estos medicamentos (Navas, 2012), que recientemente la Organización Mundial de la Salud, declaro que la resistencia humana a los antibióticos está provocando que los medicamentos disponibles actualmente en el mundo sean inútiles, pidiendo a los médicos veterinarios, ganaderos y criadores de animales que usen juiciosamente los antibióticos, por lo tanto falta concientizar y capacitar sobre el uso racional de los medicamentos muy especialmente en nuestro zona como es la región de Puno.

EVALUACIÓN DE MUESTRAS DE CANALES DE BOVINOS CON RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS SEGÚN SEXO, EDAD, RAZA Y PROCEDENCIA

Tabla 2: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo beneficiados en el camal particular de Azoguine- Puno - enero/febrero 2018.

SEXO	RESIDUOS DE ANTIBIOTICO				TOTAL	
	POSITIVO		NEGATIVO		Recuento.	%
	Recuento	%	Recuento	%		
MACHO	2	0,8%	9	3,6%	11	4.43
HEMBRA	80	32,3%	157	63,3%	237	95.56
Total	82	33.10	166	69.9	248	100.00

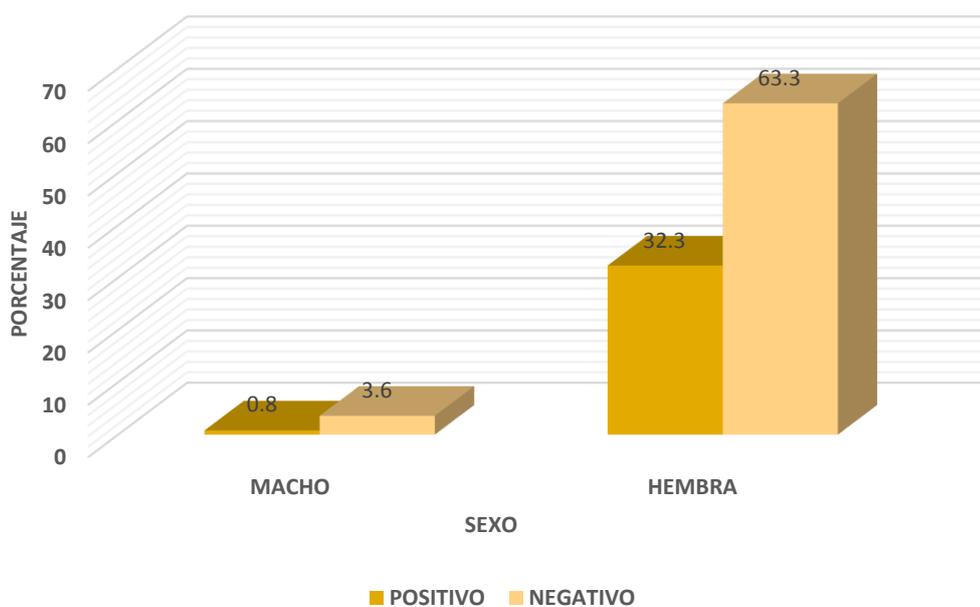


Figura N° 1: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo.

En la tabla 2 y figura N° 1 se muestra, que para el sexo macho represento ser 02 positivos a residuos de antibióticos de 11 animales beneficiados en el camal, el cual representa el 0.8%, a diferencia que para las hembras de 237 animales beneficiados resultaron ser positivos a residuos de antibióticos 80 animales con el 32.3%.

Llevado los datos a la prueba de Ji cuadrada, mostro ser no significativo para la variable sexo ($P \geq 0.05$), lo cual indica que la presencia de residuos de antibióticos no está influenciada por el sexo, mas al contrario se debe a la administración de antibióticos en los animales que son destinados a camal sin tomar en cuenta los criterios de periodo de retiro, que estas pueden estar influenciada en la alimentación para una mejor conversión alimenticia o con fines terapéuticos, estando de acuerdo con lo manifestado por Flores (2016), quien indica que en relación al sexo en vacunos, no se encontraron diferencia significativas a los porcentajes de antibióticos encontrados en las canales de machos y hembra beneficiados en el camal de Santa Rosa – Ecuador; comparando el residuo de antibióticos en canales de otras especies, se tiene a Medina y col (2008) quien indica que el 66% de muestras en hígado de cerdos son positivos a sulfonamidas y el 81% fueron positivas a sulfonamidas en muestra de hueso de cerdo beneficiados en el Matadero de Guadalajara – México, datos que son muy superiores a los hallados en nuestra investigación, es probable que el uso de los antibióticos en cerdos sea utilizado con mayor énfasis en la alimentación a fin de obtener una mejor conversión alimenticia, lo que en vacunos no se utiliza con mucha frecuencia, muy especialmente en nuestra zona; estando de acuerdo con lo que manifiesta la FAO (2004), que alimentando cerdos con desechos de fermentación de tetraciclinas crecían más que los que recibían otros alimentos, esta podría ser una de las razones que muestra un porcentaje elevado para residuos de antibióticos en canales de cerdos, a diferencia que en los vacunos se está utilizando en forma muy restringida esta droga en la alimentación para una mejor conversión alimenticia.

Comparando la presencia de residuos de antibióticos con las aves (pollo), beneficiados en el Municipio de San Francisco del Estado de Zulia – Venezuela, encontraron resultados por encima de los límites permitidos de residuos (3 810µg/Kg de musculo de pechuga) para la enrofloxacin, que es uno de los antibióticos más usados en medicina avícola (Molero-Saras y Col, 2006) que a diferencia del trabajo de investigación el porcentaje de residuos de antibióticos en canales de vacunos es inferior al de canales de aves, esto atribuimos que en aves también se hace el uso de antibióticos en la alimentación para una mejor conversión alimenticia, es por ello que el 100% mostraron antibióticos por encima de los límites permisibles, lo que no se observa en las canales de vacunos beneficiados en el camal particular de Azoguine de la ciudad de Puno.

Cabe indicar que el uso de antimicrobianos como tratamiento terapéutico o profiláctico en animales de consumo masivo como aves de corral, actualmente es importante para industria avícola, puesto que permite promover el crecimiento y crianza intensiva, pero cuando se utilizan de forma exagerada sin principios de buenas practica veterinaria, la presencia de residuos en los alimentos representa riesgo para la Salud Publica, que podría generar resistencia bacteriana y reacciones alérgicas (Azañero, 2010), que comparando los residuos de antibióticos en las canales de vacunos beneficiados en el camal particular de Azoguine, su uso no es indiscriminado, más al contrario estaría relacionado a tratamientos profilácticos y/o terapéuticos o bien en pequeño porcentaje lo usan los criadores para una mejor conversión alimenticia, que de acuerdo a los resultados del estudio el 33.10% muestra residuos de antibióticos en las canales de vacunos, que de una u otra forma afecta la Salud Publica de la población que la consume.

Tabla 3: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según edad beneficiados en el camal particular de Azoguiné - Puno - enero/febrero 2018.

EDAD	RESIDUOS DE ANTIBIOTICO				TOTAL	
	POSITIVO		NEGATIVO		Recuento	%
	Recuento	%	Recuento	%		
JÓVENES	7	2,8%	16	6,4%	23	9.27
ADULTOS	75	30,2%	150	60,5%	225	90.73
Total	82	33.10	166	67.9	248	100.00

Jóvenes : de 31 a 52 meses.

Adultos : de 53 a 96 meses.

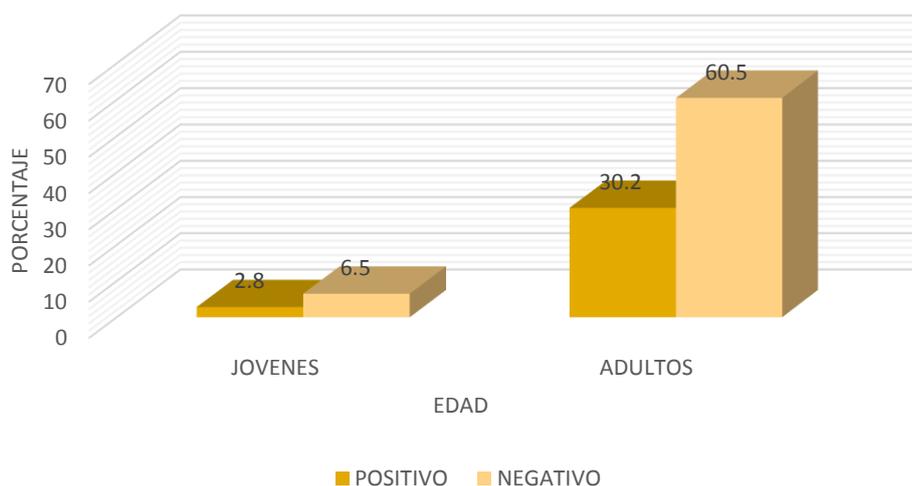


Figura N° 2: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según edad.

De la tabla 3 y figura 2, se desprende que de 23 animales jóvenes beneficiados en el camal Azoguiné, el 2.8% resultaron ser positivos a residuos de antibióticos y de los 225 animales adultos beneficiados en el camal, el 30,2% fueron positivos a residuos de antibióticos.

Llevado al análisis estadístico mediante la prueba de Ji cuadrado para la variable edad, fue no significativo ($P \geq 0.05$), el cual indica que la presencia de residuos de antibióticos no está influenciada por la variable edad, esto se debe a la

administración de antibióticos en forma irracional en aquellos animales que están destinados para consumo humano y la falta de conocimiento sobre el periodo de retiro de las drogas hace que en las canales se presente residuos de antibióticos; es probable que los animales destinados a camal, la alimentación conjuntamente con los piensos se estén adicionando fármacos para una mejor conversión alimenticia, que representa una de las formas más usadas en crianza de animales para engorde, es por ello que el porcentaje de animales que muestran residuos de antibióticos en las canales como muestra el presente estudio, es considerado como una amenaza para la salud pública, estando de acuerdo con lo que manifiesta Diez y Calderón (1999), y también muchos criadores de nuestra zona es probable que estén utilizando los antibióticos como promotores del crecimiento en producción animal, a fin de reducir la morbilidad y mortalidad a las enfermedades subclínicas y clínicas y el uso de grupos de antimicrobianos no relacionados estructuralmente que conducen a un incremento de la resistencia bacteriana de origen animal y humano, coincidimos con lo que manifiesta Montalvo y col, (2004), ya que en el Reino Unido el informe Swann propuso que los antimicrobianos usados para la promoción de crecimiento deberían restringirse para que no afecten la eficacia de un fármaco terapéutico prescrito a través del desarrollo de cepas resistentes.

Se debe tener presente que todos los medicamentos veterinarios, utilizados con fines terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico pueden dejar residuos de sustancias madres o compuestos de origen y/o sus metabolitos en los alimentos, por lo que es importante conocer los modos de empleo oficialmente autorizados incluido los periodos de suspensión de tratamiento, concordamos con lo manifestado por Montalvo y col, (2004), que esta característica es probable que

se presente en los animales que son criados en la región de Puno, por ello se tuvo más del 30% de positividad a residuos de antibióticos en las canales de los vacunos beneficiados en el camal particular de Azoguine para esta época (lluvia), que de acuerdo al estudio estadístico, esta no está influenciada por la edad, es por ello que la presencia de residuos de antibióticos esta de acorde al uso de estas en forma irracional, sin conocimiento y en forma indiscriminada por parte de los criadores fundamentalmente.

Cabe indicar que en toda actividad ganadera tal como es en nuestra región de Puno, se usa una gran variedad de productos farmacológicos, dentro de los cuales están los antibióticos con fines de terapia, la mayoría de estos fármacos tienden a depositarse en órganos y tejidos de los animales tratados, constituyendo grave riesgo para la salud de los consumidores, cuando no se respeta el tiempo de retiro recomendado por el fabricante, produciendo hipersensibilidad, resistencia bacteriana, alteración de la microbiota intestinal, nefropatía y hepatotoxicidad, estando de acuerdo con lo que indica Rico y Ferraro (1999), que relacionando con el presente trabajo de investigación, el porcentaje elevado de residuos de antibióticos de canales en vacunos jóvenes o adultos, influyen en la Salud Pública de la población que la consume, es por ello que estos resultados deben ser observados con cautela a fin de tomar medidas pertinentes que eviten el expendio de canales con residuos de antibióticos a la población que la consume.

Tabla 4: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según raza beneficiados en el camal particular de Azogueine- Puno - enero/febrero 2018.

RAZA	RESIDUOS DE ANTIBIOTICO				TOTAL	
	POSITIVO		NEGATIVO		Recuento	%
	Recuento	%	Recuento	%		
BROWN SWISS	81	32,7%	160	64,5%	241	97.18
CRUCE CON CRIOLLO	1	0,4%	6	2,4%	7	2.82
Total	82	33.10	166	66.9	248	100.00

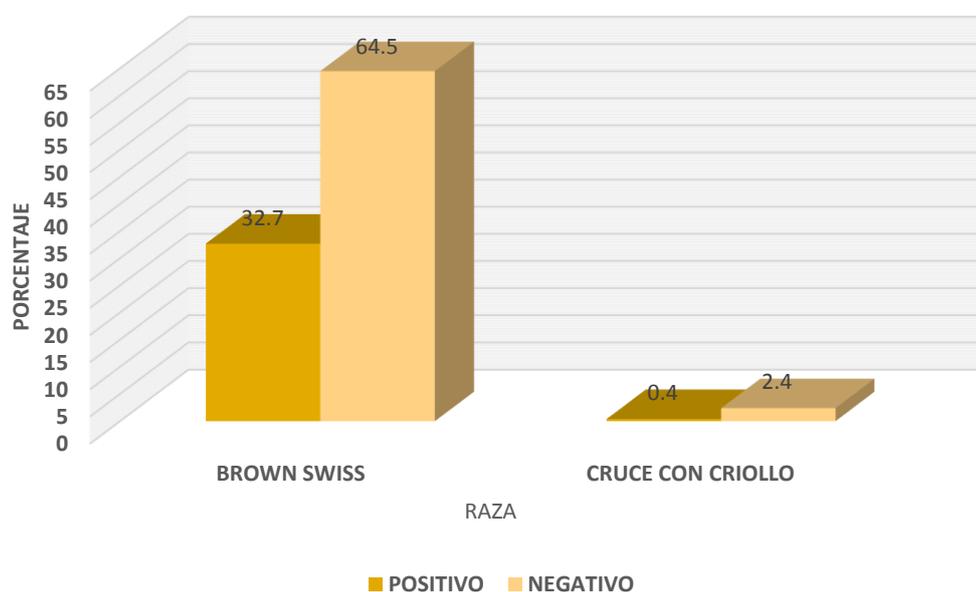


Figura N° 3: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según raza.

En la tabla 4 y figura N° 3, se muestra que para la raza Brown Swiss se tuvo el 32.7% de positivos a residuos de antibióticos de 241 animales beneficiados y para los animales cruce con criollo se tuvo el 0.4% de residuos de antibióticos en las canales de 7 animales beneficiados.

Llevado al análisis estadístico de prueba de Ji cuadrada para la variable raza, mostro ser no significativo ($P \geq 0.05$), lo cual indica que esta variable no influye en la presencia de residuos de antibióticos en las canales de los animales

beneficiados, probablemente esta presencia de residuos de antibióticos más está en la responsabilidad de aquellas personas que usan los antibióticos en los animales sin que en ella se tenga algún conocimiento sobre el periodo de retiro o el uso de estos mismos sin ningún criterio clínico, por la falta de conocimiento es probable que no saben su uso ya que los antibióticos están destinados para el uso profiláctico, terapéutico y como promotores de crecimiento coincidiendo con lo que manifiesta Calderón, (1999); Cancho y Col (2000) y Montalvo y Col (2004), sin embargo es probable que algunos profesionales de la Medicina Veterinaria puedan estar utilizando antimicrobianos promotores del crecimiento que a veces utilizan en cantidades que superan los límites permisibles, cuyo rango esta entre 2.5 a 125 mg/kg (Diez y Calderón, 1999), que estos animales al ser beneficiados muestran residuos de antibióticos que influye en las personas que las consumen provocando especialmente resistencia a antibióticos.

Teniendo presente que los residuos de antibióticos veterinarios son los compuestos que permanecen en el organismo animal como consecuencia de un tratamiento, incluyendo el principio activo original y los productos de biotransformación (Pérez, 2005), que si no se respetan los modos de empleo oficialmente autorizados, incluido los periodos de suspensión de tratamiento (Montalvo y col, 2004), trae consigo la presencia de residuos de antibióticos en las canales de los animales, es así que en nuestra región es probable que no se respete el uso adecuado de fármacos, es por ello que al ser beneficiados estos animales, muestran la presencia de residuos de antibióticos, frente a este punto cabe indicar que es muy difícil realizar su diagnóstico al momento del beneficio de los animales, esto requiere la utilización del estudio microbiológico el cual demanda tiempo hasta permitir que la carne con antibióticos sea observada,

estando de acuerdo con lo que menciona Mendo (1995) el cual utiliza el método de placa de difusión en agar con los microorganismos de *Bacillus subtilis* y el *Micrococcus luteus*, en el presente estudio utilizamos el primer microorganismo, así también Fernández (2007), utilizo el método bacteriológico para la detección de residuos de antibióticos en alimentos, tal como se realizó en el presente estudio con la finalidad de detectar residuos de antibióticos en canales de vacunos.

Tabla 5: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según procedencia beneficiados en el camal particular de Azoguine- Puno - enero/febrero 2018.

PROCEDENCIA	RESIDUOS DE ANTIBIOTICO				TOTAL	
	POSITIVO		NEGATIVO		Recuento	%
	Recuento	%	Recuento	%		
HUANCANE – TARACO	48	19,4%	93	37,5%	141	56.85
PAUCARCOLLA	23	9,3%	59	23,8%	82	33.07
TIQUILLACA-VILQUE- MAÑAZO	11	4,4%	14	5,6%	25	1.08
Total	82	33.1	166	66.90	248	100.00

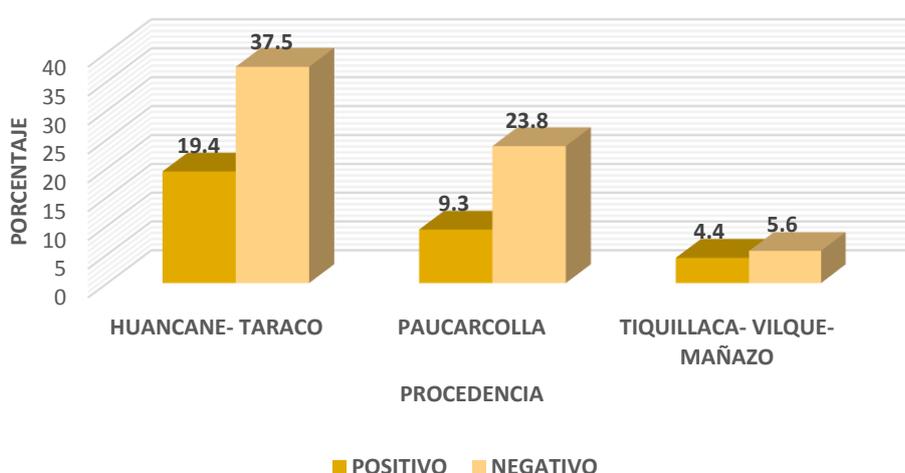


Figura N° 4: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según procedencia.

La tabla 5 y figura N° 4, que de 141 animales beneficiados procedentes de la zona de Huancané-Taraco mostró presentar el 19,4% de residuos de antibióticos, así mismo de 82 animales que se beneficiaron procedentes de la zona de Paucarcolla mostro ser positivos a residuos de antibióticos en las canales el 9.3% y el 4.4% de los 25 animales que procedían de Tiquillaca, Vilque y Mañazo.

Llevado al análisis estadístico de la prueba de Ji cuadrada para la variable procedencia de los animales sobre la presencia de residuos de antibióticos en las canales de vacunos, mostro ser no significativo ($P \geq 0.05$), el cual indica que la variable procedencia de los animales no influye en la presencia de residuos de antibióticos en los animales beneficiados en el camal particular de Azoguine de la ciudad de Puno, ya que el uso indiscriminado de antibióticos trae consigo consecuencia negativas tal es el caso de la generación de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos, estando de acuerdo con lo que manifiesta Okolo (1986), y entendiendo que la región de Puno, es considerada como uno de las regiones que tiene el mayor número de crianza de vacunos, es por ello que en su actividad ganadera es probable que se usen una gran variedad de productos farmacológicos, que la mayoría de ellos tienden a depositarse en órganos y tejidos de los animales tratados (Rico y Ferraro, 1999), ya que la presencia de antibióticos constituye un grave riesgo para la salud de los consumidores como pueden ser la hipersensibilidad, resistencia bacteriana, alteraciones de la microbiótica intestinal, nefropatías y hepatotoxicidad, es por ello que el consumo de residuos de antibióticos superando los límites máximos permitidos de antibióticos en $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (Codex, 2012), atenta contra la Salud Pública, puesto que en el presente estudio se ha visto que la presencia de residuos de

antibióticos muestra mayor porcentaje de positividad en las canales de animales que vienen a ser beneficiados provenientes de la zona de Huancané - Taraco, seguido de los animales que proceden de la zona de Paucarcolla, que comparando con Granda (2015), reporto que al realizar el estudio de residuos de antibióticos en terneras (Quito – Ecuador), la presencia de antibióticos de las canales analizadas mostro valores superiores al de la presente investigación con un 82%, encontrando muestras positivas para penicilina, gentamicina y estreptomicina, siendo todos los animales terneras, hechos que reflejan casi la misma presencia de residuos de antibióticos en nuestra zona el cual refleja que el uso de los antibióticos en animales como son los vacunos es en forma abusiva sin atender a los principios de la buena práctica veterinaria, el cual representa un grave riesgo para la Salud Pública (Azañero, 2010).

Entendiendo que todos los medicamentos veterinarios, que al ser utilizada con alguna finalidad, pueden dejar residuos de sus sustancias madres (Montalvo y col, 2004), y los efectos de los residuos no se manifiestan con un problema de toxicidad aguda, nadie se enferma por consumir algunas veces un alimento animal con residuos de medicamentos, cabe indicar que la manifestación es a largo plazo, estando de acuerdo con lo que nos manifiesta Anadon (2007), ya que al consumir carne con residuos de antibióticos los efectos en la población humana pueden ser directos (toxicidad de riñón, hígado, medula, oído y efectos teratógenos) o bien presentar efectos indirectos (alergias y fenómenos de resistencia bacteriana) tal como lo manifiesta Cancho y Col (2000), que de acuerdo al estudio realizado estaríamos poniendo mayor interés en los animales que vienen de las zonas de Huancané-Taraco, ya que son animales que muestran el mayor porcentaje con residuos de antibióticos en las canales,

seguido de la zona de Paucarcolla, por el porcentaje elevado en estas dos zonas, es probable que falten programas de capacitación, sensibilización tanto a criadores de vacunos, técnicos agropecuarios y los mismos propietarios de la crianza de vacunos a fin de que ellos hagan el uso racional de los antibióticos en los animales y de esa forma se estaría contribuyendo a preservar la salud pública de la población que consume carne de vacuno, y es probable que en los microorganismos patógenos pueden llegar a producir mutaciones para obtener la resistencia a los agentes quimioterapéuticos (Gonzales y col, 2004), es por ello que el uso incontrolado de los medicamentos en nuestra zona, probablemente este ocasionando un rápido desarrollo de resistencia a los antibióticos en los microorganismos causantes de enfermedades.

Tabla 6: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo, edad, raza y procedencia beneficiados en el camal particular de Azogueine- Puno - enero/febrero 2018.

SEXO	EDAD	RAZA	PROCEDENCIA	RESIDUOS DE ANTIBIOTICO			
				POSITIVO		NEGATIVO	
				Recuento	%	Recuento	%
MACHO	JOVENES	BROWN SWISS	HUANCANE-TARACO	0	0,0%	1	0,4%
			PAUCARCOLLA	0	0,0%	0	0,0%
			TIQUILLACA-VILQUE- MAÑAZO	0	0,0%	1	0,4%
		CRUCE CON CRIOLLO	HUANCANE-TARACO	0	0,0%	0	0,0%
			PAUCARCOLLA	0	0,0%	0	0,0%
			TIQUILLACA-VILQUE- MAÑAZO	0	0,0%	0	0,0%
	ADULTOS	BROWN SWISS	HUANCANE-TARACO	1	0,4%	1	0,4%
			PAUCARCOLLA	0	0,0%	4	1,6%
			TIQUILLACA-VILQUE- MAÑAZO	1	0,4%	1	0,4%
		CRUCE CON CRIOLLO	HUANCANE-TARACO	0	0,0%	1	0,4%
			PAUCARCOLLA	0	0,0%	0	0,0%
			TIQUILLACA-VILQUE- MAÑAZO	0	0,0%	0	0,0%
HEMBRA	JOVENES	BROWN SWISS	HUANCANE-TARACO	6	2,4%	3	1,2%
			PAUCARCOLLA	1	0,4%	6	2,4%
			TIQUILLACA-VILQUE- MAÑAZO	0	0,0%	3	1,2%
		CRUCE CON CRIOLLO	HUANCANE-TARACO	0	0,0%	1	0,4%
			PAUCARCOLLA	0	0,0%	0	0,0%
			TIQUILLACA-VILQUE- MAÑAZO	0	0,0%	1	0,4%
	ADULTOS	BROWN SWISS	HUANCANE-TARACO	40	16,1%	83	33,5%
			PAUCARCOLLA	22	8,9%	49	19,8%
			TIQUILLACA-VILQUE- MAÑAZO	10	4,0%	8	3,2%
		CRUCE CON CRIOLLO	HUANCANE-TARACO	1	0,4%	3	1,2%
			PAUCARCOLLA	0	0,0%	0	0,0%
			TIQUILLACA-VILQUE- MAÑAZO	0	0,0%	0	0,0%
TOTAL				82	33,1%	166	66,9%

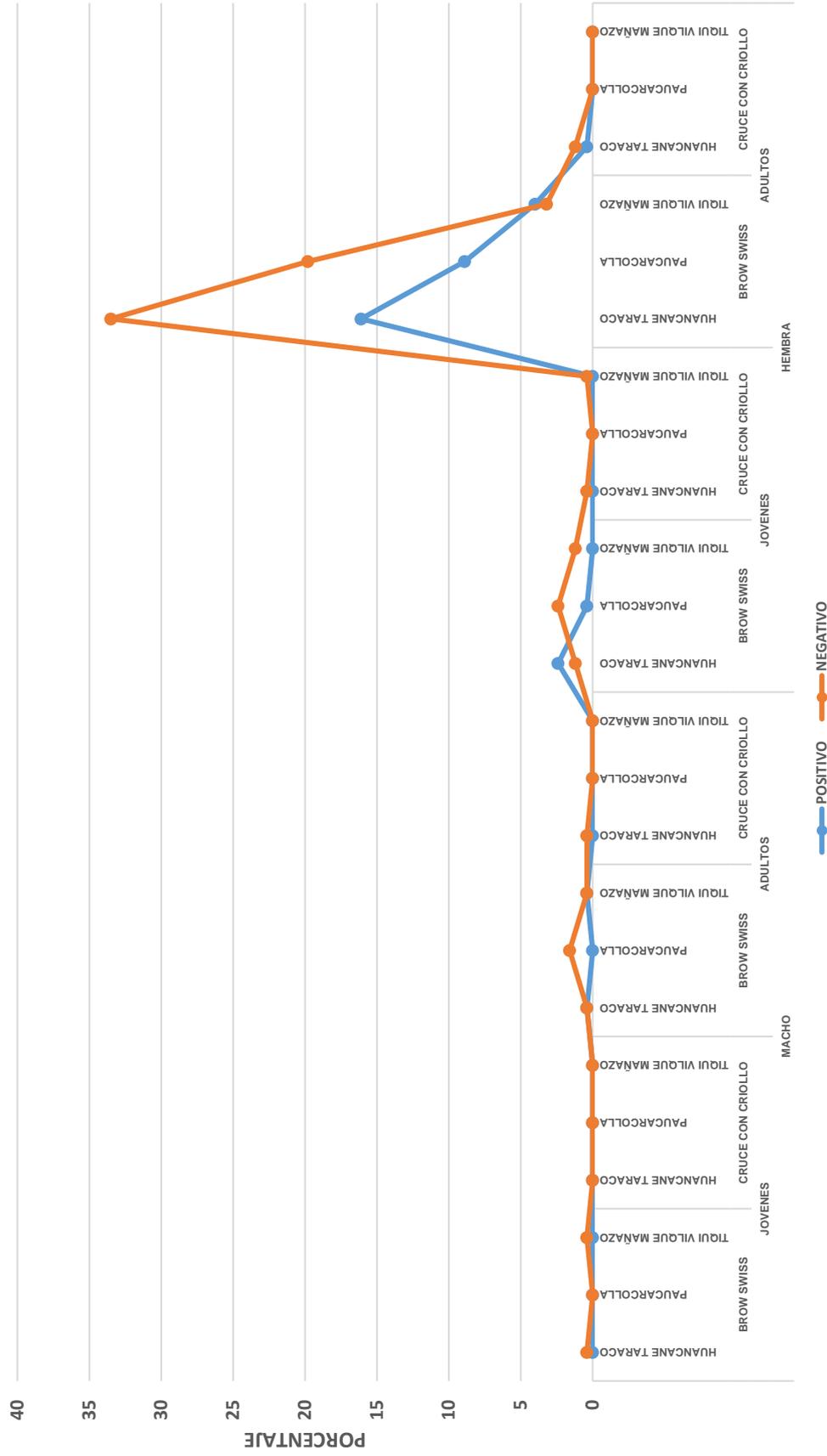


Figura N° 5: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo, edad, raza y procedencia.

En la tabla 6 y figura N° 5, se muestra los valores de porcentajes hallados para los residuos de antibióticos en las canales de vacunos que fueron beneficiados en el camal particular de Azoguine de la ciudad de Puno, cabe indicar que el mayor porcentaje de animales con residuos de antibióticos están los vacunos hembras, adultas de la raza Brown Swiss, procedente de la zona de Huancané– Taraco, el cual mostro el 16.1% de canales con residuos de antibióticos, para la misma raza, edad y sexo se muestra en los animales procedentes de la zona de Paucarcolla con un 8.9% de residuos de antibióticos en las canales de esta zona, y con un 4.0% para los animales que provienen de la zona de Tiquillaca, Vilque y Mañazo, asimismo se muestra que los animales hembras, jóvenes de la raza Brown Swiss procedentes de la zona de Huancané – Taraco mostro el 2.4% de residuos de antibióticos en las canales de estos animales.

De estos resultados de residuos de antibióticos en las canales de vacunos, muestran tener riesgo dentro de la Salud Publica en la población que las consume, y coincidiendo con lo que manifiesta Zarazaga y Torres (2002), quien manifiesta que a finales de los sesenta, surgieron las primeras comunicaciones de preocupación sobre el incremento de la resistencia a la posible relación con el consumo de antibióticos como promotores de crecimiento en los animales, teniendo esta alarma presente se eliminaron los antibióticos como promotores de crecimiento que son utilizados en medicina animal, pero el uso de penicilinas y tetraciclinas es probablemente usada en forma abusiva sin que se respeten los límites permisibles en la alimentación que se les da a los animales, por lo que se requiere que se dé mayor importancia a la presencia de residuos de antibióticos por parte de las instancia competentes de inocuidad alimentaria, que este hecho

no solo debe ser a nivel regional, sino a nivel nacional y por ende en el resto del mundo.

Tabla 7: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo, beneficiados en el camal particular de Azogueine - Puno - enero/febrero 2018.

SEXO	Media *	Desviación estándar	Máximo	Mínimo
MACHO	8,09	2,09	9,57	6,61
HEMBRA	13,31	5,24	29,78	6,56

* = diámetro en milímetros

Tabla 8: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según edad, beneficiados en el camal particular de Azogueine - Puno - enero/febrero 2018

EDAD	Media *	Desviación estándar	Máximo	Mínimo
JOVENES	12,49	4,52	17,81	7,25
ADULTOS	13,24	5,33	29,78	6,56

Tabla 9: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según raza, beneficiados en el camal particular de Azogueine - Puno - enero/febrero 2018.

RAZA	Media *	Desviación estándar	Máximo	Mínimo
BROWN SWISS	13,23	5,25	29,78	6,56
CRUCE CON CRIOLLO	8,99	0,00	8,99	8,99

Tabla 10: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según procedencia, beneficiados en el camal particular de Azogueine - Puno - enero/febrero 2018.

PROCEDENCIA	Media *	Desviación estándar	Máximo	Mínimo
HUANCANE TARACO	14,34	5,80000	29,78	7,21
PAUCARCOLLA	11,66	3,16163	19,20	7,37
TIQUILLACA- VILQUE-MAÑAZO	11,27	5,16403	22,43	6,56

En las tablas 7, 8, 9 y 10, muestra el halo de inhibición de desarrollo en el medio de cultivo de las muestras de tejido diafragmático para los animales según el sexo, edad, raza y procedencia, que de estos cuadros se desprende que las hembras fueron los que presentaron mayor diámetro de halo con una media de 13.31mm, referente a la edad se muestra que para los animales jóvenes y adultos casi son similares la presentación de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano, y en cuanto a la raza se muestra que los de la raza Brown Swiss son los que mostraron mayor inhibición de crecimiento bacteriano con 13.23mm, y en cuanto a la zona de procedencia de los animales se tiene que los animales que provienen de la zona de Huancané – Taraco son los que permitieron mayor inhibición de desarrollo bacteriano con 14.34mm de diámetro.

Al no existir datos referenciales sobre la positividad de residuos de antibióticos en canales de vacunos, se tomó como referencia lo reportado por Azañero (2010), el cual manifiesta que los halos de inhibición para los diferentes fármacos como patrones de inhibición de los fármacos en el crecimiento bacteriano fue de 6mm para la dilución de 1/25 de la penicilina, de 6mm para la dilución de 1/25 de la estreptomycin, de 4mm para la dilución de 1/20 para el sulfametoxazol, y de

3mm para la dilución de 1/50 de la eritromicina, este mismo autor considera que los positivos para estos antibióticos son los halos que mostraron mayor a 2mm de inhibición de crecimiento bacteriano, datos que sirvieron de base para expresar la positividad de residuos de antibióticos en las canales de vacunos beneficiados en el camal particular de Azoguine, cabe indicar que en el estudio se mostró halos de inhibición de 29,78mm de diámetro como máximo y de 6.56mm de diámetro como mínimo, el cual indica que la presencia de residuos de antibióticos en las canales de los vacunos destinados para consumo humanos, que según Azañero (2010), manifiesta que los halos de inhibición mayores o iguales a 2mm son positivos, en nuestro estudio se muestra valores muy superiores el cual indica que las canales se están expendiendo con un porcentaje muy elevado de residuos de antibióticos el cual atenta contra la Salud Pública de la población que la consume, es probable que esto se deba a la falta de conocimiento, información y socialización en la población que cría los animales y más aún si se trata de técnicos agropecuarios y porque no pensar en los propios profesionales de la medicina veterinaria, ya que la aplicación de antibióticos para el control de enfermedades en los animales domésticos es una práctica habitual, ya que desde que se descubrieron estos antimicrobianos contribuyen significativamente en el control de las enfermedades, pero el desconocimiento de su uso, la aplicación inmoderada de estos antimicrobianos hace que los animales se beneficien sin respetar el periodo de retiro y la población está consumiendo cantidades considerables de antibióticos en las canales de vacunos atentando contra la Salud Pública de la población.

V. CONCLUSIONES

- De los 248 bovinos beneficiados en el camal particular de Azoguine de la ciudad de Puno, se mostró el 33,10% de positivos a residuos de antibióticos en las canales.
- El porcentaje de canales con residuos de antibióticos fue mayor en las hembras con 32.3% frente a los machos, los adultos presentaron mayor porcentaje frente a los jóvenes con 30.2%, la raza Brown Swiss mostro el 32.7% muy superior al cruce con criollos, y el mayor porcentaje lo mostro los animales que provienen de la zona de Huancané – Taraco con 19.4%. el mayor halo de inhibición de crecimiento bacteriano frente a la presencia de residuos de antibióticos en canales de bovinos fue de 29,78mm y el menor halo fue de 6.56mm de diámetro.

VI. RECOMENDACIONES

- En la prueba en placa con el *Bacillus subtilis*, se debe evitar la contaminación tomando las medidas de asepsia adecuadas, por ser extremadamente sensible.
- Los Médicos Veterinarios en los centros de beneficio municipal y privado deben mejorar las medidas de bioseguridad, prestando énfasis en la presencia de residuos de antimicrobianos en las canales.
- El Servicio Nacional de Sanidad Agraria SENASA y la Dirección Regional de Salud Ambiental DIGESA, deben vigilar el uso de residuos de antimicrobianos en carnes de consumo humano.

VII. REFERENCIAS

- ANADÓN A. (2007).** Antibióticos de uso veterinario y su relación con la seguridad alimentaria y salud pública [Sede web]. España.
- AZAÑERO, R.G. (2010).** Detección y cuantificación de residuos antimicrobianos en tejido muscular de pollo en cuatro mercados de Lima Cercado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tesis de pre grado- Lima Perú.
- BADÍA, M., HERNÁNDEZ, B., MURREL, J., MAHILLON, J., & PERÉZ, M. (2011).** Aislamiento y caracterización de cepas de Bacillus asociadas al cultivo de arroz (*Oryza sativa* L). Revista Brasileña de Agroecología, 90-99.
- BENÍTEZ, S., BENTLEY, J., BUSTAMANTE, P., SÁNCHEZ, C., & CORRALES, L. (2007).** Aislamiento de los microorganismos cultivables de la rizosfera de *Ornithogalum umbellatum* y evaluación del posible efecto biocontrolador en dos patógenos del suelo. NOVA, 147-153.
- CANCHO GRANDE, B., M.S., GARCÍA FALCÓN., & J., SIMAL GÁNDARA. (2000).** El uso de los antibióticos en la alimentación animal: Perspectiva actual. Ciencia y Tecnología Alimentaria.
- Codex Alimentarius. (2012).** Comisión del Codex Alimentarius Límites Máximos de Residuos para Medicamentos Veterinarios en los Alimentos, 40. Disponible en http://www.codexalimentarius.net/vetdrugs/data/MRL2_s_2012.pdf
- CRAVZOV, Alicia L., AVALLONE, CARMEN M., DUPERTUIS, PATRICIA I. (2002).** Detección instrumental de antibióticos en alimentos. Facultad de Agroindustrias UNNE. Departamento de Química. Chaco- Argentina.

CUERVO LOZA, J. (2010). Aislamiento y caracterización de *Bacillus* spp. como fijadores biológicos de nitrógeno y solubizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales. Bogotá: Tesis de Grado. Pontificia Universidad Javeriana.

DÍEZ P, CALDERÓN V. (1999). The Reveurs de Lange. Empleo de antibióticos en veterinaria. Disponible en:
<http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol22/suple3/pdf/26resi.pdf>

FAO. (2004). Uso de antimicrobianos en animales de consumo. Obtenido de FAO producción y sanidad animal:
<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5468s/y5468s00.pdf>

F.D.A. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. (1991). Tolerance and/or safe levels of animal drug residues in milk. Department of Health and Human Services. : 1-2.

FERNANDEZ T. (2007). Técnicas microbiológicas de residuos inhibidores. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/959/95917304.pdf>

FLORES, M. (2016). Determinación de residuos de tetraciclinas en la carne bovina del camal del cantón Santa Rosa, provincia de El Oro. Tesis de pregrado, 31-32 pp. Universidad Técnica de Machala, Ecuador.

GESCHE, M.V., C. EMILFORK, M.V. (1996). Residuos de antimicrobianos en canales de vacas Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

GONZÁLES H, ESPINOSA A, CUMPLIDO G, BERMÚDEZ M. (2004).

Estabilidad de sulfametazina en carne y productos cárnicos de cerdo tratado térmicamente. Veterinaria México.

GRANDA, A. (2015). Determinación de residuos de antibióticos en carne y

vísceras de origen bovino que se expenden en la ciudad de Quito. Tesis de pregrado, 32-33 pp. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, Ecuador. Disponible en

<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7990/1/UPS-CT004859.pdf>

KILINC B, MEYER C, HILGE V. (2007). Evaluation of the EEC four-plate test

and Premi test for screening antibiotic residues in trout (*Salmo trutta*). International Journal of Food Science & Technology.; 42(5):625-28.

LIVINGSTON, R.C. (1985). Antibiotic residues in animals derived food, J. Assoc.

Off. Anal. Chem 68: 966-967.

MANGER J. PhD, ASBURY C. PhD, COLWELLI R, BRAVO R, BRADEN L,

BRATER K, et al. (2009). Farmacopea de los Estados Unidos N°32. USP 32. Estados Unidos.

McFarland J. (1907). The nephelometer: an instrument for estimating the

numbers of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. J. Am. Med. Assoc. 49: 1176- 1178.

MORENO, J. Y ABARRACIN V. (2012). Aislamiento, cultivo e identificación de

microorganismos ambientales a partir de muestras naturales. Universidad Complutense de Madrid; rev. REDUCA (biología) - España.

NAVAS, MARÍA ELENA. (2012). El riesgo de usar antibióticos en animales.

Obtenido de BBC MUNDO:

http://www.bbc.co.uk/mundo/noticias/2012/04/120412_antibioticos_animal_es_resistencia_men.shtml

MEDINA M, GONZÁLES D y RAMÍREZ A. (2008). Detección de residuos antimicrobianos en tejidos comestibles y tetraciclinas en hueso de cerdo.

Rev. Salud Anim.; 30(2): 110-15.

MENDO M. (1995). Lecciones de Microbiología y Medios de Cultivo. Manual de laboratorio. 4ª Edición. Ediciones Laborales SRL.Lima:

MINISTERIO DE SALUD CHILE. (1997). Aprueba Reglamento Sanitario de los Alimentos. Diario Oficial de la República de Chile.

MOLERO-SARAS G, PÉREZ M, SÁNCHEZ A, MAVÁREZ DE SERRANO M, ASCANIO E, OVIEDO DE VALE M. (2006). Residuos de Enrofloxacin en Tejido Hepático y Muscular de Pollos Beneficiados en el Municipio San Francisco del Estado Zulia, Venezuela. Rev.Científica.; 16(6): 629-33.

MONTALVO M, OLIVOS O, GILABERT S y RODRÍGUEZ A. (2004). Análisis del riesgo de los medicamentos veterinarios presentes en los alimentos. Rev. Actualidad en Farmacología y Terapéutica. 2(3):168-75.

MONTES, L., R. TAMAYO., E. GESCHE., M. PINTO, R. CASTRO., R. SCHOEBITZ., R. CRISTI., X. ARANDA, L. SAEZ. (1985). Determinación de residuos de pesticidas y antibióticos en carnes bovinas de la IX y X regiones y análisis teórico de la situación actual y nacional en relación a la aplicación de hormonas en bovinos Vol. I Residuos, p. 82. UACH/Ministerio de Agricultura-FIA. Valdivia. Chile.

- NOUWS, J.F. (1981).** Tolerances and detection of antimicrobial residues in slaughtered animals, *Archiv für Lebensmittelhygiene* 32: 103-110.
- OKOLO, M.I.O. (1986).** Bacterial drug resistance in meat animals. A review. *International Journal Zoonosis*. 13: 143-152
- ORTEGA, P.M. (1988).** Empleo de antibióticos en alimentos para animales y sus consecuencias sobre la Salud Pública. *La Revista de Investigación Clínica* 40: 463-472
- PÉREZ J. (2005).** Ensayos de familiarización en la técnica de detección de residuos de antibióticos y sulfamidas en músculo esquelético animal por el método de las cuatro placas [tesina]: Buenos Aires: Universidad de Belgrano.
- PÉREZ DE CIRIZA J, HUARTE A, SAIZ I, OZCÁRIZ M, PURROY M. (1999).** Residuos de sustancias inhibidoras en carnes. Disponible en: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol22/suple3/suple26.html>
- RICO, S., FERRARO, D. (1999).** Residuos de medicamentos de uso veterinario. *Aprocal*, 1–22. Disponible en <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- QUINTANA, H. (2009).** Estadística Inferencial. Separata Maestría en Salud Pública. Universidad Nacional Mayor de San Andrés, La Paz – Bolivia.
- SERRANO D, Ph.D. (2002).** Biodisponibilidad de los antimicrobianos en los nuevos sistemas de producción [sede Web]. Lima: Apavic.com; Disponible en: <http://www.apavic.com>.

VALENZUELA, E. (2003). Guía Pasos Prácticos Microbiología 112, edita Instituto de Microbiología, Universidad Austral de Chile, 40 p

ZARAZAGA MIRIAM Y TORRES CARMEN. (2002). Antibióticos como promotores del crecimiento en animales. ¿Vamos por el buen camino? Gaceta Sanitaria, Vol 16, N°2, pp. 109-112. Recuperado de http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S021391112002000200002&script=sci_arttext

ANEXOS**A) PRUEBA DE JI CUADRADA PARA SEXO**

- Nivel de significancia: 3.84
- Confiabilidad: 95%
- Valor de Ji cuadrada: 0.2531
- Significancia: no significativo ($P \geq 0.05$).

B) PRUEBA DE JI CUADRADA PARA EDAD

- Nivel de significancia: 3.84
- Confiabilidad: 95%
- Valor de Ji cuadrada: 0.0078
- Significancia: no significativo ($P \geq 0.05$).

C) PRUEBA JI CUADRADA PARA RAZA

- Nivel de significancia: 3.84
- Confiabilidad: 95%
- Valor de Ji cuadrada: 0.3919
- Significancia: no significativo ($P \geq 0.05$).

D) PRUEBA DE JI CUADRADA PARA PROCEDENCIA

- Nivel de significancia: 5.99
- Confiabilidad: 95%
- Valor de Ji cuadrada: 0.1643
- Significancia: no significativo ($P \geq 0.05$).

ANEXO E. ANDEVA.

Análisis de varianza para halo de inhibición, según el sexo					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	53,068	1	53,068	1,954	0,166
Dentro de grupos	2172,382	80	27,155		
Total	2225,451	81			

Análisis de varianza para halo de inhibición, según edad					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3,577	1	3,577	0,129	0,721
Dentro de grupos	2221,874	80	27,773		
Total	2225,451	81			

Análisis de varianza para halo de inhibición, según raza					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	17,755	1	17,755	0,643	0,425
Dentro de grupos	2207,695	80	27,596		
Total	2225,451	81			

Análisis de varianza para halo de inhibición, según procedencia					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	157,790	2	78,895	3,014	0,055
Dentro de grupos	2067,660	79	26,173		
Total	2225,451	81			

ANEXO F. FOTOS

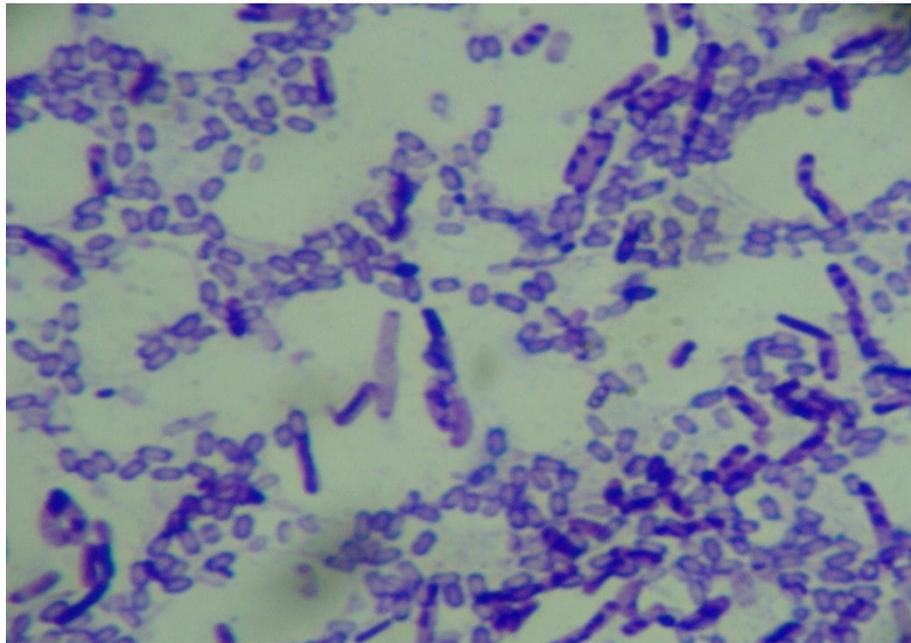


Figura 6: *Bacillus subtilis*.

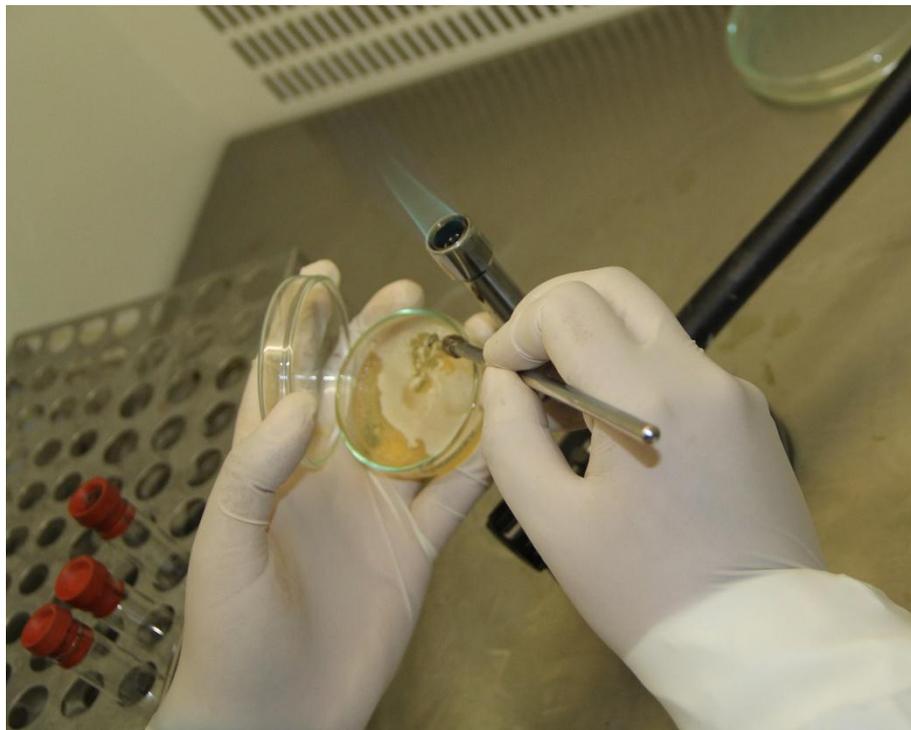


Figura 7: placa con el microorganismo.

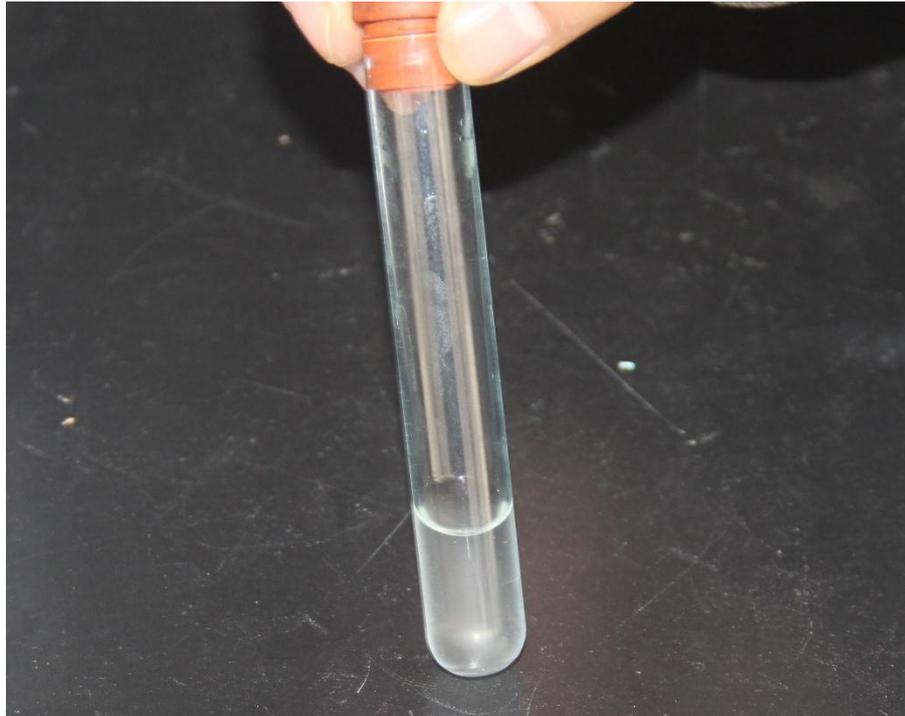


Figura 8: turbidez del microorganismo (McFarland).



Figura 9: placas con cultivo.



Figura 10: obtención de tejido diafragmático.



Figura 11: obtención de muestra para el sembrado.



Figura 12: sembrado de la muestra.



Figura 13: cultivo de placas.

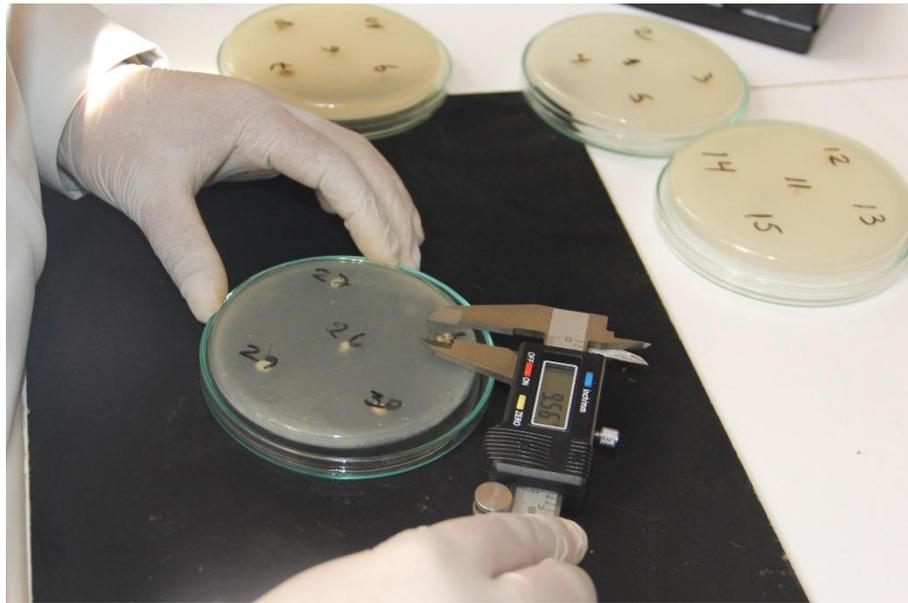


Figura 14: lectura de placas positivas.

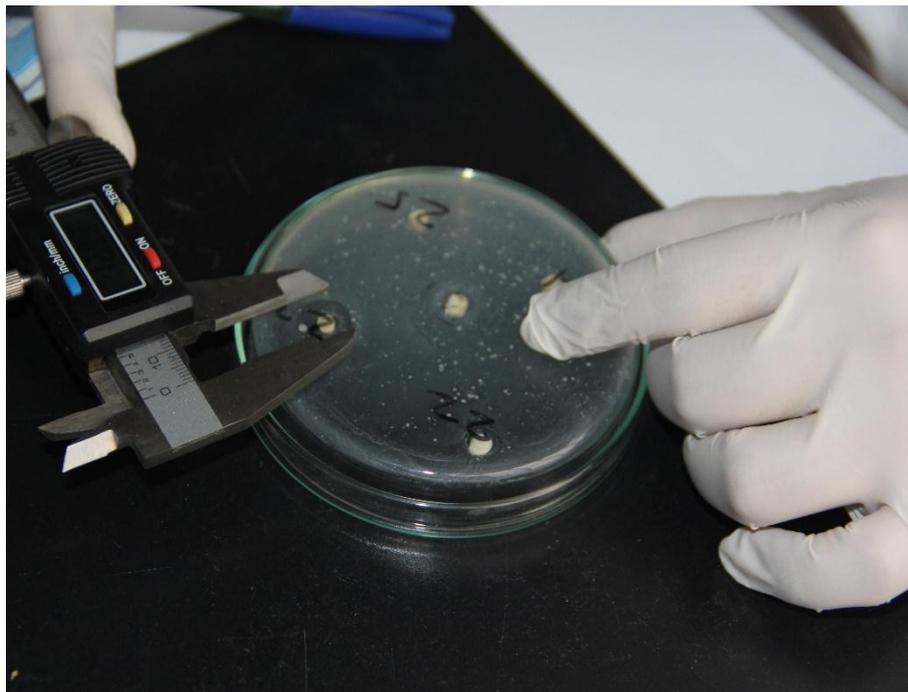


Figura 15: lectura de los halos de inhibición bacteriana.



Figura 16: placa con inhibición de desarrollo bacteriano.