

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



***“RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN CANALES DE BOVINOS (BOS TAURUS)***

***FAENADOS EN EL CAMAL MUNICIPAL DE LA PROVINCIA DE ILAVE - PUNO***

***2018”***

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. JULIO CESAR AGUILAR CCALLA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2018**

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

**TESIS**

**“RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN CANALES DE BOVINOS (BOS TAURUS)  
FAENADOS EN EL CAMAL MUNICIPAL DE LA PROVINCIA DE ILAVE - PUNO  
2018”**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. JULIO CESAR AGUILAR CCALLA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**



**APROBADA POR:**

**PRESIDENTE:**

  
\_\_\_\_\_  
**M.Sc. JOSÉ LUIS MALAGA PUMARICA**

**PRIMER MIEMBRO:**

  
\_\_\_\_\_  
**Mtro. NELVA ENRIQUETA CHIRINOS GALLEGOS**

**SEGUNDO MIEMBRO:**

  
\_\_\_\_\_  
**M.Sc. NUBIA LILIA CATACORA FLORES**

**DIRECTOR / ASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. CIRO MARINO TRAVERSO ARGUEDAS**

**Área : Salud pública**

Fecha de sustentación: 08/06/2018

**Tema : Residuos de antibióticos en canales de bovinos**

## DEDICATORIA

Con todo mi amor dedico primeramente este trabajo a DIOS por brindarme salud y la vida para culminar esta etapa

También dedico a mi esposa Antonia, ya que sin ella no hubiese sido posible este proyecto, y en especial a mis hijas Anais, Araceli y Ana ya que ellas son el motor para superarme cada día mas

A mis profesores de la universidad por brindarme sus conocimientos en esta etapa

JULIO CESAR

## AGRADECIMIENTO

Mi más sincero agradecimiento a docentes por la paciencia, tiempo y entrega que se me ha brindado en esta etapa

Y un agradecimiento especial al Dr. Ciro Traverso Arguedas ya que sin él no hubiese sido posible la elaboración de mi trabajo de tesis, ya que él me guio en todo este proceso

También a la municipalidad de llave por permitirme sacar las muestras de canales de vacunos en su camal así mismo al MVZ responsable del canal Lenin Laqui Cutipa y a todo su equipo de trabajo

Asimismo, agradezco a mi colega Flor, por su apoyo incondicional para este proyecto

JULIO CESAR

## ÍNDICE GENERAL

<b>DEDICATORIA</b> .....	3
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	4
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	7
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	8
<b>ÍNDICE DE ACRÓNIMOS</b> .....	9
<b>RESUMEN</b> .....	10
<b>ABSTRACT</b> .....	11
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	12
2.1. ANTIBIÓTICOS DE USO VETERINARIO .....	14
2.1.1. Residuos de antibióticos veterinarios .....	16
2.1.2. Resistencia bacteriana: .....	17
2.1.3. Análisis de residuos de antibióticos .....	20
2.1.4. Peligro del uso de antibióticos .....	21
2.2. ANTECEDENTES .....	22
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	31
3.1. Ubicación:.....	31
3.2. Muestra (Método de probabilidades) (Quintana, 2009) .....	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.....	33
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, <i>Bacillus subtilis</i> :.....	35
3.4.4. Difusión de microorganismos en las placas. ....	36
3.5. Preparación de la muestra de tejido.....	37
3.6. Sembrado de las placas.....	37
3.7. Cultivo de placas. ....	37
3.8. Lectura de placas.....	37
3.9. Modelo matemático.....	38
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>40</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>60</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>61</b>
<b>VII. REFERENCIAS.....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>68</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 2: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo. ....	42
FIGURA N° 3: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según edad.....	45
FIGURA N° 4: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según raza.....	48
FIGURA N° 5: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según procedencia. .....	51
<i>FIGURA N° 6: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo, edad, raza y procedencia. ....</i>	<i>55</i>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Residuos de antibióticos en canales de bovinos beneficiados en el camal provincial de llave-Puno- enero 2018.....	40
Tabla 2: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018.....	42
Tabla 3: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según edad beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018.....	45
Tabla 4: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según raza beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018.....	48
Tabla 5: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según procedencia beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018. ....	50
Tabla 6: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo, edad, raza y procedencia beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018. ....	54
Tabla 7: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo, beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018. ....	57
Tabla 8: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según edad, beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018. ....	57
Tabla 9: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según raza, beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018. ....	57
Tabla 10: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según procedencia, beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018. ....	58



## 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 municipal de la provincia de Ilave, ubicado a una altitud de 3,898 m. con el objetivo de determinar la presencia de residuos de antibióticos por el método microbiológico en las muestras de las canales de vacunos (*Bos taurus*) que se beneficiaron en el lapso del mes de enero del 2018, la prueba microbiológica fue por el método de placa y el *Bacillus subtilis* con 338 muestras de canales de vacunos, de los cuales el 39.30% mostraron ser positivos a residuos de antibióticos, siendo el 21.8% para los machos en relación a las hembras que fue de 17.5%; para los vacunos jóvenes fue de 12.4% en comparación con los adultos que fue de 26.9%, referente a la raza mostro el 24.3% para los de la raza Brown Swiss y solo el 2.7% para los criollos, referente a la procedencia de los animales fue de 18.3% para los animales que provenían de la zona de Ilave, seguido de la zona de Yunguyo con 8.6%, Acora con 8.3% y Zepita que solo mostró el 4.1% de residuos de antibióticos en las canales destinadas para consumo humano, el desarrollo de los halos por inhibición de crecimiento bacteriano fue de 24.56mm como valor máximo y de 5.84mm como valor mínimo.

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

## ABSTRACT

The research work was carried out in the municipal camal of the province of Ilave, located at an altitude of 3,898 m.s.n.m. with the objective of determining the presence of antibiotic residues in the cattle carcasses that benefited during the month of January 2018, with the aim of determining antibiotic residues in cattle carcasses (*Bos taurus*) slaughtered in the provincial camal from the city of Ilave by the microbiological method, it was examined by the plaque method and the *Bacillus subtilis* with 338 samples of cattle channels, of which 39.30% showed to be positive to residues of antibiotics, being 21.8% for the males in relation to the females, which was 17.5%; for young cattle it was 12.4% compared to adults, which was 26.9%, referring to the breed showed 24.3% for those of the *Brown Swiss* breed and only 2.7% for the Creoles, referring to the origin of the animals it was 18.3% for the animals that came from the Ilave zone, followed by the Yunguyo area with 8.6%, Acora with 8.3% and Zepita that only showed 4.1% of antibiotic residues in the channels destined for human consumption, Halos development due to inhibition of bacterial growth was 136.44mm as maximum value and 5.84mm as minimum value.

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

## I. INTRODUCCIÓN

El uso de medicamentos veterinarios es esencial durante la crianza de animales productores de alimentos. Estos productos son empleados con fines terapéuticos y preventivos en caso de infecciones o enfermedades no contagiosas y en otros casos se aplican como promotores del crecimiento. En los últimos años el sector agroalimentario en todo el mundo se ha enfrentado a la diseminación de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en los que intervienen, entre otros agentes, residuos de medicamentos veterinarios; lo cual pone de manifiesto el manejo indebido de los fármacos durante las prácticas agropecuarias y el incumplimiento de los tiempos de retiro de los medicamentos (Kabir, et al, 2004).

Los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal generan productos de baja calidad y constituyen un riesgo para la salud de los consumidores, produciendo toxicidad aguda o crónica, efectos mutagénicos y carcinogénicos, desórdenes en el desarrollo corporal, reacciones alérgicas y fenómenos de resistencia bacteriana, entre otros (Doyle, 2006).

Estos efectos adversos han hecho que organizaciones internacionales regulen con fundamento científico los residuos de fármacos de uso veterinario potencialmente peligrosos para la salud (Vaca, 2003). A pesar de la antigüedad de las regulaciones internacionales existentes, sólo hasta hace poco en varios países de América Latina, dada la actual situación económica y comercial, se está prestando atención a esta problemática sanitaria y se han comenzado a adoptar nuevas medidas para reconocer la

residualidad de fármacos y de otras sustancias en los alimentos de origen animal producidos en el país, con lo cual se pretende lograr mayor competitividad de los productos pecuarios en los mercados internacionales. La presente investigación, da a conocer aspectos importantes relacionados con los residuos de fármacos en alimentos de origen animal especialmente en carcasa de vacunos beneficiados en el camal municipal de la ciudad de Ilave, por lo que la investigación en residuos de fármacos en alimentos de origen animal se puede recopilar información concerniente a la inocuidad de alimentos y evaluar sistemática y oportunamente eventos en salud para la orientación de la acción a diferentes campos de vigilancia reconocidos como “modelos”, dos de los cuales proporcionarán información relevante en el campo de residualidad de fármacos en alimentos, ellos son el modelo de vigilancia de los medicamentos y el modelo de vigilancia de la inocuidad de los alimentos, que está en manos de las instituciones competentes en el control sanitario de los alimentos destinados a consumo humano, para lo cual se trazó los siguientes objetivos: Analizar las muestras mediante el método microbiológico para detectar presencia de residuos de antibióticos en las canales de bovinos faenados en el camal de la provincia de Ilave. Evaluar datos comparativos según sexo, edad, raza y procedencia de los animales faeneados en el camal de la provincia de Ilave.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. ANTIBIÓTICOS DE USO VETERINARIO

Los antibióticos 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, y Col 2002).

El uso de los antimicrobianos en Medicina Veterinaria se efectúa con los siguientes fines: 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). 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 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 (Díez y Calderón, 1999). Como promotores del crecimiento: las 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 produzcan una diferencia que fuera económicamente significativa en el desarrollo de la producción animal, tuvieran poca o incluso ninguna aplicación como agentes terapéuticos en los animales y en el hombre, y 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, 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 125 mg/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).

### **2.1.1. Residuos de antibióticos veterinarios**

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).

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). 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. 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 desdoblán 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).

### **2.1.2. 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).

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

### 2.1.3. Análisis de residuos de antibióticos

En método de 4 placas 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 1,2 cm 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 20 h 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, y Col. 2009).

#### **2.1.4. Peligro del uso de 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).

## 2.2. ANTECEDENTES

Los antibióticos imputan grandes beneficios por la eficacia antibacteriana que poseen para combatir las enfermedades que afectan a los vacunos, no obstante el uso irracional sin respetar las dosis recomendadas del producto indiscriminadamente puede tener graves consecuencias, como la resistencia bacteriana al producto que conlleva a una sobre dosificación. Tomando en cuenta la exigencia de los mercados Internacionales que cada día demandan de los productores y exportadores productos con mayor calidad de la carne

en lo relacionado a los residuos de antibióticos se desarrolló el presente trabajo investigativo que se titula “Residuos de Antibióticos en carnes bovinas en el matadero Industrial Nuevo Carnic. Managua.” En el matadero se seleccionaron muestras al azar una vez por mes para determinación de residuos de antibióticos en la canal para ser realizadas en el laboratorio mediante la técnica LAST-FSIS. Mediante las cuales permitieron reconocer la ausencia de residuos de antibióticos en las canales de los años muestreados, así como también determinar la ausencia de residuos por procedencia, ya sea de departamentos o municipios de Nicaragua, que llevan animales a este matadero alcanzándose a determinar el porcentaje de animales analizándose por productores. Es saludable reconocer que a pesar de la limitada asistencia médica que reciben los productores y el alto número de productos químicos ofrecidos por las casas comerciales las canales encuentran libres de residuos de antibióticos (Meyling, 2014).

El trabajo fue cuantificar los niveles de sulfametoxazol, norfloxacino, ciprofloxacino y lincomicina en pollo comercializado en el Mercado Bazurto, tiendas de barrio y supermercados de la ciudad de Cartagena (Colombia). Para esto se obtuvieron 10 muestras al azar de cada sitio de procedencia, con un total de 30 muestras para el estudio. Estas se empacaron en bolsas de polietileno de primer uso debidamente rotuladas para luego ser congeladas a  $-18 \pm 1$  °C. La cuantificación se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Todas las muestras sobrepasan las cantidades mínimas de fármacos de acuerdo al Codex Alimentarius, exceptuando las pechugas de supermercado. Estas no sobrepasan los límites de

sulfametoxazol y ciprofloxacino, y son las muestras que mantienen el umbral más bajo de detección para todos los análisis. Las únicas pechugas que cumplían con la legislación colombiana para recuentos microbianos fueron las procedentes de supermercados de cadena (Piedad, y Col, 2002).

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).

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).

En 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).

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 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 determinó 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).

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).

Alimentando a cerdos con desechos de fermentación de tetraciclinas, se descubrió que 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 surgió la 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).

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 norfloxacino 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).

La presencia de antibióticos en leches crudas y procesadas en el municipio de Montería. Se realizaron tres muestreos con intervalo de dos meses, en una empresa acopiadora de leche en la ciudad de Montería, además, se analizaron muestras de leche pasteurizadas de seis marcas comerciales. A todas las muestras de leche se les realizó la prueba de la acidez por alcoholimetría, también se determinó la presencia del antiséptico H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a través de KI al 35% y V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> al 1% en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluido. Posteriormente se detectó la presencia de antibióticos (Total antibiotic Bio K 331 (BioX Diagnostic® Jemelle, Belgique). Se determinó el límite de sensibilidad de la prueba con controles positivos de penicilina 0.004UI/ml, oxitetraciclina 0.100 µg/ml y cloramfenicol 5.000 µg/ml, realizando diluciones seriadas dobles. Para cada muestreo se emplearon leches como controles negativos y positivos. El primer muestreo evaluó 212 muestras de leche, el segundo 167 y el tercero 66, para un total de 445 muestras. Todas las muestras fueron

negativas a la acidez por alcoholimetría, se evidenció la presencia de antibióticos en 111(25 %) muestras de leches crudas; en ninguna leche pasteurizada se detectaron antibióticos. La sensibilidad de la prueba demostró que penicilina fue detectable a 0.002UI/ml; oxitetraciclina a 0.005µg/ml y cloramfenicol a 1,25 µg/ ml. El 25 % de trazas de antibióticos en leches demuestra la inexistencia de un control sanitario, así como evidencia el uso indiscriminado de antibióticos en la industria pecuaria y un riesgo para la salud pública (Salim, et al., 2008).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación:

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el camal de la provincia de Ilave, de donde se obtuvieron las muestras de tejido diafragmático de las canales de vacunos, que fueron beneficiados en el mes de enero del 2018. 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 (2783 animales beneficiados por dos meses).

z<sup>2</sup>= nivel de confianza al 95% (1.96).

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

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

e<sup>2</sup>= error experimental (5%).

$$M = \frac{2783 \times 3.84 \times 2500}{25(2782) + 9600} = 337.55 \text{ (338)}.$$

- De los vacunos faenados, en el mes de enero se obtuvieron las muestras de tejido diafragmático habiéndose obtenido 338 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  $-18^{\circ}\text{C}$ , 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 de antimicrobianos pero, no permite determinar la identidad del residuo inhibidor. La técnica se basó 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 incubó 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  $37 \pm 1$  °C.
- Congelador con temperatura igual o menor a  $-18$  °C  $\pm 1$  °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 Professional Truper.
- Lapicero de tinta indeleble.
- Algodón.
- Alcohol al 95%.

#### **3.4.2. Preparación del medio de cultivo.**

- Se pesó 22,5 gr 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 3 a 4 veces.
- Luego se tapó con algodón y papel aluminio atado con pabilo de algodón.
- Se colocó en la autoclave a 15lb de presión por 15min a 121°C.
- Luego se retiró del auto clave 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 horas, 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 las 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):

<b>PENICILINA</b>			
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
<b>ESTREPTOMICINA</b>			
S.M (250UI/mL)			1/25
		(10UI/mL)	
S14 mm			6 mm
<b>SULFAMETOXASOL</b>			
MS.M (1mg/mL)			1/20
		(0.05mg/mL)	
= 10 mm			4 mm
<b>ERITROMICINA</b>			
SS.M (1000UI/mL)	1/25 (40UI/mL)		1/50 (0,8UI/mL)
Ø 13 mm	8 mm		3 mm

uS.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 Chi cuadrado, por lo que el modelo matemático fue el siguiente (Daniel, 2009).

$$X^2 = \sum \sum \frac{(|O_{ij} - E_{ij}| - 0.5)^2}{E_{ij}} ; X^2 = \sum \sum \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Dónde:

$X^2$  = Valor de ji cuadrado calculado.

$\Sigma\Sigma$  = Doble sumatoria.

$O_{ij}$  = Valor absoluto observado.

$E_{ij}$  = Valor absoluto esperado.

0.5 = Corrección de Yates, para un grado de libertad.

Sin corrección de Yates, para varios grados de libertad.

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 provincial de Ilave-Puno- enero 2018.**

RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS	NRO. ANIMALES	PORCENTAJE
Positivo.	133	39,30
Negativo.	205	60,70
Total	338	100,00

En la tabla 1 se muestra los canales positivos a residuos de antibióticos, que representa el 39.30% de 338 canales evaluadas con el 60.70% de canales negativos.

De estos resultados deducimos que un porcentaje de 39.30% tiene residuos de antibióticos en las canales que son expendidos en los diferentes mercados de la ciudad de Moquegua, Ilo y Tacna, 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 del Ministerio de Salud, 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 adecuado de antibióticos y la aplicación de los antibióticos es restringido en los centros de engorde, por lo que 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 carcasas con residuos de antibióticos (Gesche y Emilfork, 1996), valores sumamente inferiores a los hallados en nuestro estudio, que también atribuimos a la responsabilidad de los

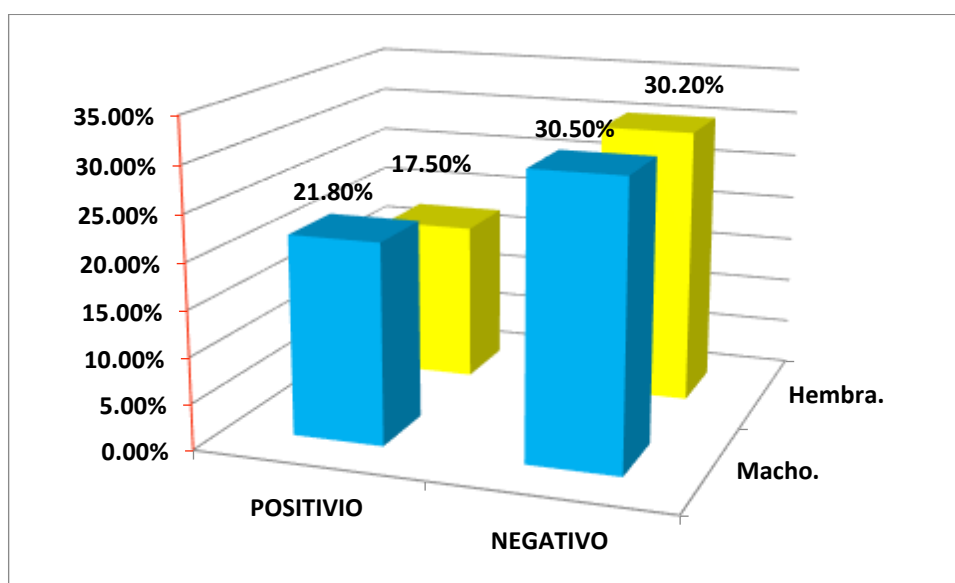


criadores y personal médico veterinario en la que hace el uso irracional de los antibióticos con lo obtenido en las canales de bovinos beneficiados en el camal provincial de la ciudad de Ilave, que muestra un porcentaje de 39.30%, es un valor preocupante el cual refleja el uso indiscriminado de antibióticos 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 la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) quien indica 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 las zonas de Ilave, Acora, Yunguyo y Zepita de 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 provincial de llave - Puno - enero 2018.**

SEXO	RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS			
	POSITIVO		NEGATIVO	
	Nro. Animales	%	Nro. Animales	%
Macho.	74	21,8%	103	30,5%
Hembra.	59	17,5%	102	30,2%
Total	133	39.30	205	60.70



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

En la tabla 2 y figura N° 1 muestra para el sexo macho 74 animales positivos de 177 animales beneficiados en el camal, el cual representa el 21,8%, a diferencia que para las hembras de 161 animales beneficiados resultaron ser positivos a residuos de antibióticos 59 animales con el 17,5%.

Llevado los datos de los residuos de antibióticos de canales de vacunos según sexo 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 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.

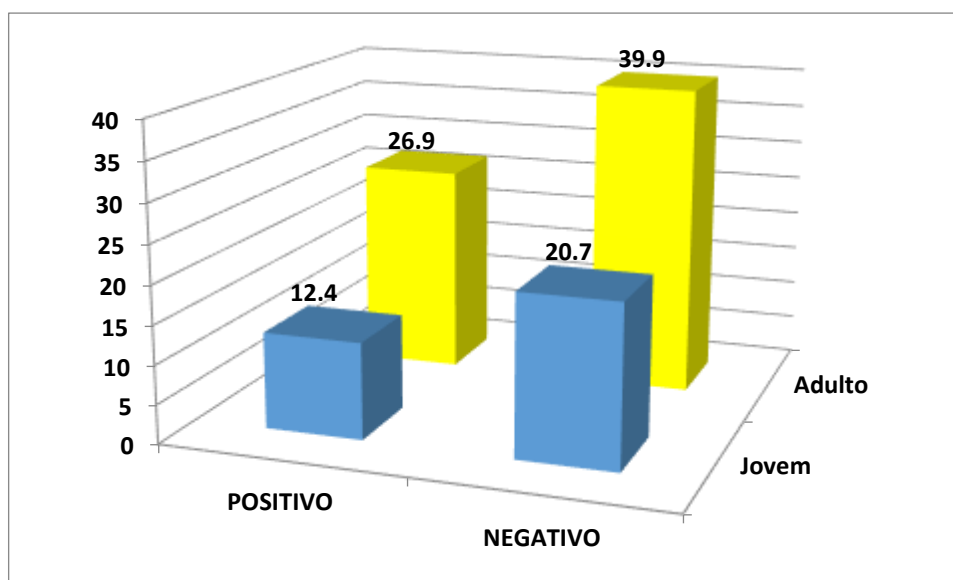
Comparando el residuo de antibióticos en canales de otras especies, se tiene a Medina y col (2008) quien indica que el 66% de muestras en hígado de cerdos son positivos a sulfonamidas y el 81% fueron positivas a sulfonamidas en muestra de hueso de cerdo beneficiados en el Matadero de Guadalajara – México, datos que son muy superiores a los hallado 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 es probable que se este utilizando en las zonas de estudio qque relativamente se usa con frecuencia, 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 en la investigación realizada muestra un porcentaje elevado para residuos de antibióticos en canales de cerdos.

Confrontando 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 (3810ug/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 los pollos, esto atribuimos que en pollos también se hace el uso de antibióticos en la alimentación para una mejor conversión alimenticia, es por ello que el 100% de los pollos mostraron antibióticos por encima de los límites permisibles, lo que no se observa en las canales de vacunos beneficiados en el camal provincial de la ciudad de Ilave.

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 inmoderada 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, su uso no es indiscriminado, más al contrario está relacionado a tratamientos profilácticos y/o terapéuticos o probablemente un pequeño porcentaje de criadores de vacunos lo usan para una mejor conversión alimenticia, que de acuerdo a los resultados del estudio el 39.30% muestra residuos de antibióticos en las canales que de una u otra forma afecta la Salud Publica de la población que la consume como son los de la región de Moquegua y Tacna.

**Tabla 3: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según edad beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018.**

EDAD	RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS			
	POSITIVO		NEGATIVO	
	Nro. animales	%	Nro. Animales	%
Adulto.	91	26,9%	135	39,9%
Joven.	42	12,4%	70	20,7%
Total	133	39.30	205	60.70



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

De la tabla 3 y figura 2, se desprende que de 112 animales jóvenes beneficiados en el camal provincial de llave, el 12.4% resultaron ser positivos a residuos de antibióticos y de los 226 animales adultos beneficiados en el camal, el 26.9% 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 carcasa se presente residuos de antibióticos, los que son destinados para consumo humano especialmente para las regiones de Moquegua y Tacna; es probable que los animales destinados a camal para ser beneficiados, en la alimentación de los animales mediante los piensos se esté adicionando antibioticos, es por ello que el porcentaje elevado que se muestra en el presente estudio es considerado como una amenaza para la salud pública, estando de acuerdo con lo que manifiesta Diez y Calderón (1999), y muchos criadores de nuestra zona es probable que estén utilizando a los antibióticos como promotores del crecimiento en producción animal que puede ser en las zonas de llave, Yunguyo, Acora y Zepita 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.

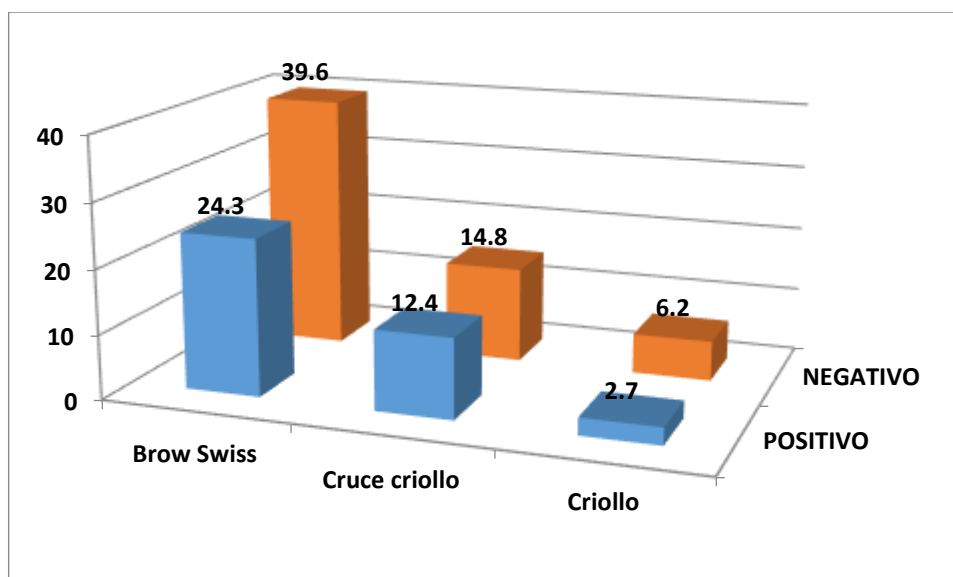
Se debe tener presente que todos los medicamentos veterinarios, utilizados con fines terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico pueden dejar residuos de sustancias madres o compuestos de origen y/o sus metabolitos en los alimentos, por lo que es importante conocer los modos de empleo oficialmente autorizados

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 zonas de llave, Acora, Yunguyo y Zepita, por ello se tuvo el 39.30% de positividad a residuos de antibióticos en las canales de los vacunos beneficiados para esta época (lluvia) en el camal provincial de llave, 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 los antibioticos en forma irracional, sin conocimiento y en forma indiscriminada por parte de los criadores fundamentalmente.

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 ya sean vacunos jóvenes o adultos, influyen en la salud pública de la población que la consume, es por ello que estos resultados deben ser observado con mucho cuidado a fin de tomar medidas pertinentes que eviten el expendio de carcasas con residuos de antibióticos.

**Tabla 4: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según raza beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018.**

RAZA	RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS			
	POSITIVO		NEGATIVO	
	Nro. animales	%	Nro. animales	%
Brow swiss.	82	24,3%	134	39,6%
Cruce criollo.	42	12,4%	50	14,8%
Criollo.	9	2,7%	21	6,2%
Total	133	39.30	205	60.70



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

En la tabla 4 y figura 3 se muestra que para la raza Brown Swiss se tuvo el 24.3% de positivos a residuos de antibióticos con 82 animales positivos, para los animales cruce con criollo se tuvo el 12.4% de residuos de antibióticos en las canales de los 42 animales positivos y de 2.7% para los animales de la raza criolla con 9 animales positivos.



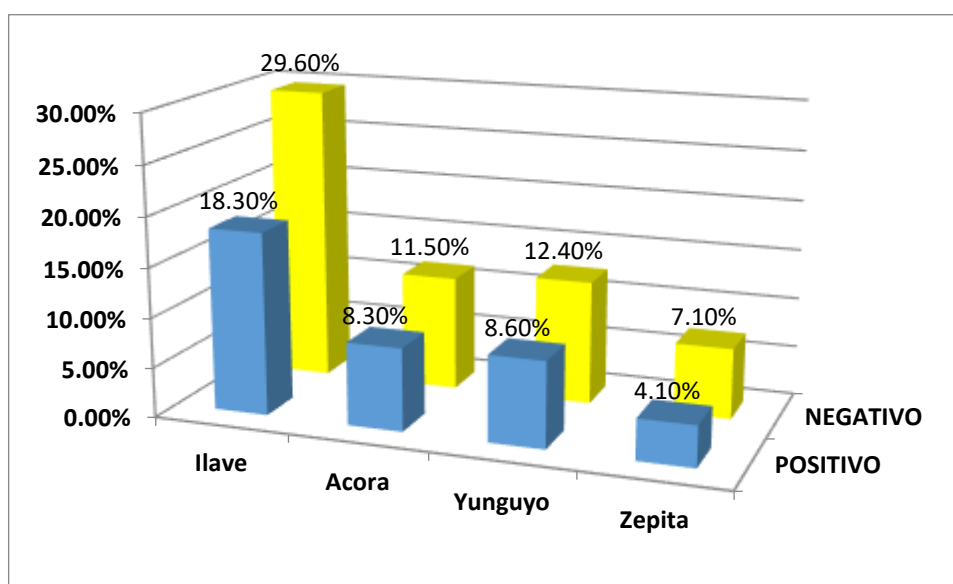
Llevado al análisis estadístico de prueba de Ji cuadrada para la variable raza, mostro ser no significativo ( $P \geq 0.05$ ), lo cual indica que esta variable no influye en la presencia de residuos de antibióticos en las carcasa de los animales beneficiados, probablemente esta presencia de residuos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

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), en nuestra región es probable que no se respete, es por ello que al ser beneficiados estos animales muestran la presencia de residuos de antibióticos, que es muy difícil realizar su diagnóstico al momento de que los animales son beneficiados, esto requiere la utilización del

estudio microbiológico el cual demanda tiempo y dinero hasta permitir que la carne con antibióticos sea observada, estando de acuerdo con lo que menciona Mendo (1995) que 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), utilizó 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 beneficiados en el camal provincial de Ilave.

**Tabla 5: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según procedencia beneficiados en el camal provincial de Ilave - Puno - enero 2018.**

PROCEDENCIA	RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS			
	POSITIVO		NEGATIVO	
	Nro. Animales	%	Nro. Animales	%
Ilave.	62	18,3%	100	29,6%
Acora.	28	8,3%	39	11,5%
Yunguyo.	29	8,6%	42	12,4%
Zepita.	14	4,1%	24	7,1%
Total	133	39.30	205	60.70



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

La tabla 5 y figura N° 4, que de 162 animales beneficiados procedentes de la zona de Ilave mostró presentar el 18.3% de residuos de antibióticos, así mismo de 67 animales que se beneficiaron procedentes de la zona de Acora mostro ser positivos a residuos de antibióticos en las carcasa el 8.3%, el 8.6% de los 71 animales que procedían de Yunguyo, y el 4.1% fueron positivos a residuos de antibióticos en las carcasas procedentes de Zepita.

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 provincial de la ciudad de Ilave, 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 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 procedencia muestra mayor porcentaje de positividad en los animales que vienen a ser beneficiados provenientes de la zona de Ilave, seguido de los animales que proceden de la zona de Yunguyo, y Acora, mostrando menor porcentaje de residuos de antibióticos a los animales que provienen de Zepita, que comparando con lo que encontró Granda (2015), en Quito – Ecuador la presencia de antibióticos de las canales analizadas mostro valores superiores al de la presente investigación con un 82.0%, encontrando muestras positivas para penicilina, gentamicina y estreptomycin, siendo todos los animales terneras, hechos que reflejan casi la misma presencia de residuos de antibióticos de las zonas de procedencia de los animales, el cual refleja que el uso de los antibióticos en animales como son los vacunos es en forma excesiva sin atender a los principios de la buena práctica veterinaria, el cual representa un grave riesgo para la salud pública (Azañero, 2010).

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, 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 llave, Acora y Yunguyo, ya que son animales que muestran el mayor porcentaje de animales con residuos de antibióticos, seguido de la zona de Zepita, 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 tal es la región de Moquegua y Tacna ya que estas carcasas son con destino a estas zonas, y es probable que en los microorganismos patógenos pueden llegar a producir mutaciones para obtener la resistencia a los agentes quimioterapéuticos, 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 provincial de Ilave - Puno - enero 2018.**

RAZA	EDAD	SEXO	PROCEDENCIA	RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS			
				POSITIVO		NEGATIVO	
				Nro. Animales	%	Nro. Animales	%
BROW SWISS	ADULTO	MACHO	ILAVE	36	10,7%	61	18,0%
			ACORA	10	3,0%	11	3,3%
			YUNGUYO	12	3,6%	11	3,3%
			ZEPITA	6	1,8%	8	2,4%
		HEMBRAS	ILAVE	0	0,0%	0	0,0%
			ACORA	0	0,0%	0	0,0%
			YUNGUYO	0	0,0%	0	0,0%
			ZEPITA	0	0,0%	2	0,6%
	JOVEN	MACHO	ILAVE	0	0,0%	0	0,0%
			ACORA	0	0,0%	0	0,0%
			YUNGUYO	0	0,0%	0	0,0%
			ZEPITA	0	0,0%	0	0,0%
		HEMBRAS	ILAVE	4	1,2%	9	2,7%
			ACORA	4	1,2%	10	3,0%
			YUNGUYO	7	2,1%	15	4,4%
			ZEPITA	3	0,9%	7	2,1%
CRUCE CRIOLLO	ADULTO	MACHO	ILAVE	8	2,4%	6	1,8%
			ACORA	0	0,0%	0	0,0%
			YUNGUYO	0	0,0%	0	0,0%
			ZEPITA	0	0,0%	0	0,0%
		HEMBRAS	ILAVE	3	0,9%	3	0,9%
			ACORA	2	0,6%	8	2,4%
			YUNGUYO	6	1,8%	6	1,8%
			ZEPITA	3	0,9%	5	1,5%
	JOVEN	MACHO	ILAVE	0	0,0%	0	0,0%
			ACORA	0	0,0%	0	0,0%
			YUNGUYO	0	0,0%	0	0,0%
			ZEPITA	0	0,0%	0	0,0%
		HEMBRAS	ILAVE	6	1,8%	8	2,4%
			ACORA	11	3,3%	6	1,8%
			YUNGUYO	2	0,6%	7	2,1%
			ZEPITA	1	0,3%	1	0,3%
CRIOLLO	ADULTO	MACHO	ILAVE	2	0,6%	5	1,5%
			ACORA	0	0,0%	0	0,0%
			YUNGUYO	0	0,0%	1	0,3%
			ZEPITA	0	0,0%	0	0,0%
		HEMBRAS	ILAVE	3	0,9%	8	2,4%
			ACORA	0	0,0%	0	0,0%
			YUNGUYO	0	0,0%	0	0,0%
			ZEPITA	0	0,0%	0	0,0%
	JOVEN	MACHO	ILAVE	0	0,0%	0	0,0%
			ACORA	0	0,0%	0	0,0%
			YUNGUYO	0	0,0%	0	0,0%
			ZEPITA	0	0,0%	0	0,0%
		HEMBRAS	ILAVE	0	0,0%	0	0,0%
			ACORA	1	0,3%	4	1,2%
			YUNGUYO	2	0,6%	2	0,6%
			ZEPITA	1	0,3%	1	0,3%

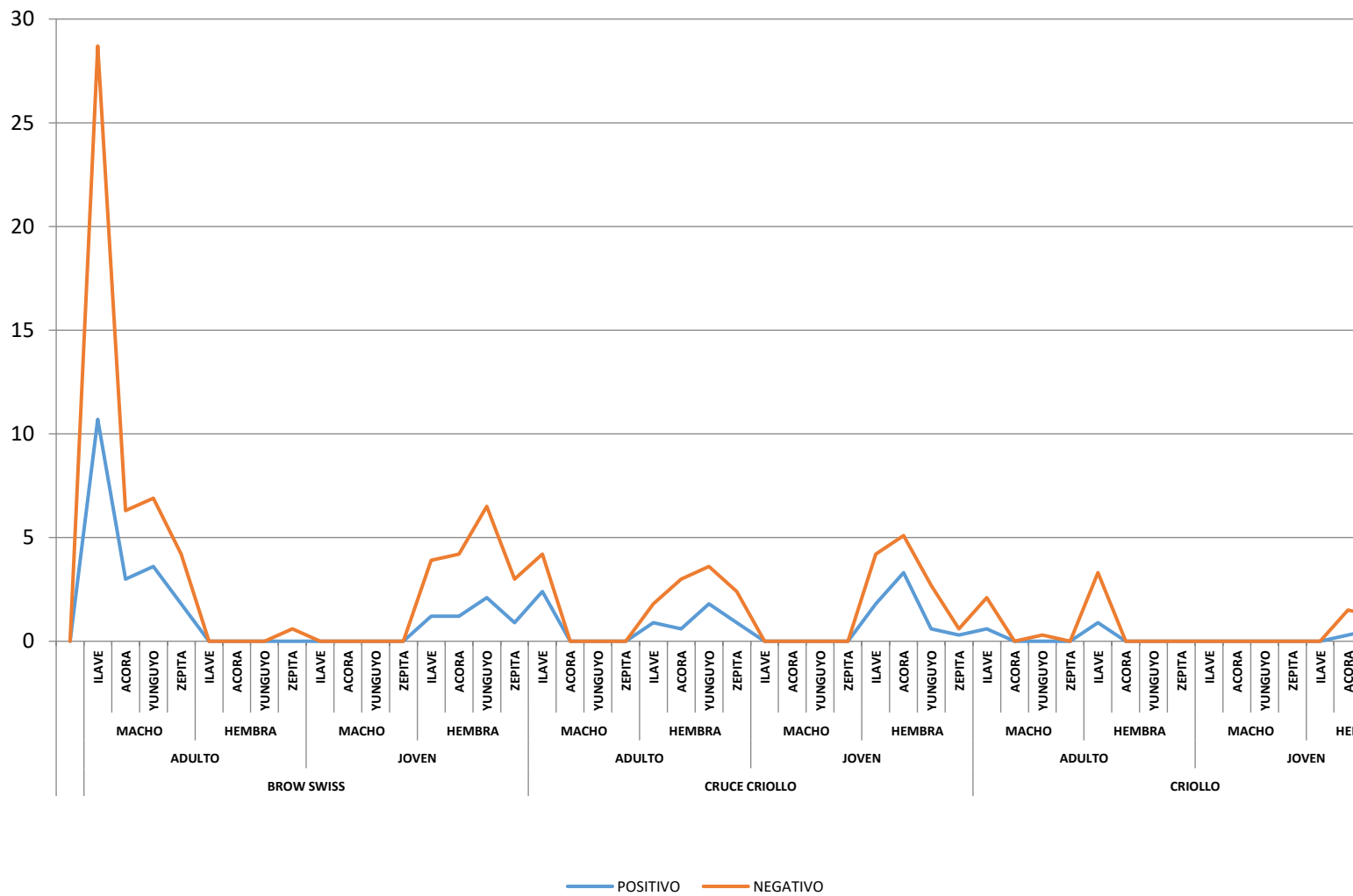


FIGURA N° 5: Residuos de antibióticos en canales de bovinos según sexo, edad, raza y procedencia.

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 provincial de la ciudad de Ilave, cabe indicar que el mayor porcentaje de animales con residuos de antibióticos están los vacunos de la raza Brow Swiss, adultos, machos de la zona de Ilave con 10.7%, seguido de los animales Brow Swiss, animales adultos, machos de la zona de Yunguyo con 7.6%, y los animales cruce con criollo adultos, machos de la zona de Ilave con 2.4%.

De estos resultados de residuos de antibióticos en las canales de vacunos, muestran tener riesgo dentro de la salud pública 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 desmedida 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 provincial de llave - Puno - enero 2018.**

SEXO	Media*	Nro Animales	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
MACHO	10,5257	74	2,28900	5,84	15,69
HEMBRA	12,6634	59	3,12787	6,48	24,56
Total	11,4740	133	2,88668	5,84	24,56

\*= diámetro en milímetros

**Tabla 8: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según edad, beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018.**

EDAD	Media	Nro animales	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
ADULTO	10,8245	91	2,47998	5,84	19,27
JOVEN	12,8812	42	3,21909	7,07	24,56
Total	11,4740	133	2,88668	5,84	24,56

**Tabla 9: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según raza, beneficiados en el camal provincial de llave - Puno - enero 2018.**

RAZA	Media	Nro animales	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
BROW SWISS	10,7418	82	2,33668	5,84	15,69
CRUCE	12,7788	42	3,40123	6,48	24,56
CRIOLLO					
CRIOLLO	12,0556	9	2,84757	8,91	17,27
Total	11,4740	133	2,88668	5,84	24,56

**Tabla 10: Diámetro del halo de inhibición por residuos de antibióticos en canales de bovinos según procedencia, beneficiados en el camal provincial de Ilave - Puno - enero 2018.**

PROCEDENCIA	Media	Nro animales	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
ILAVE	11,0689	62	2,50705	5,84	19,27
ACORA	12,4275	28	3,72000	6,31	24,56
YUNGUYO	11,5483	29	2,66237	6,91	16,25
ZEPITA	11,2071	14	2,87758	6,48	17,27
Total	11,4740	133	2,88668	5,84	24,56

En las tablas 7, 8, 9 y 10, se muestra el halo desarrollados 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 12,66 mm, referente a la edad se muestra que para los animales jóvenes como 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 Cruce con criollo son los que mostraron mayor inhibición de crecimiento bacteriano con 12,77 mm, y en cuanto a la zona de procedencia de los animales se tiene que los animales que provienen de la zona de Yunguyo fueron los que permitieron mayor inhibición de desarrollo bacteriano con 12,42 mm de diámetro.

De acuerdo a lo reportado por Azañero (2010), 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

sufametoxazol, 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, cabe indicar que en el estudio se mostró halos de inhibición de 29,78 mm de diámetro como máximo y de 6.56 mm 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 abusiva 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 la canales de vacunos atentando contra la salud pública de la población.

## V. CONCLUSIONES

- De los 338 bovinos beneficiados en el camal provincial de la ciudad de Ilave, 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 los 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.

## VI. RECOMENDACIONES

- Al realizar la determinación de residuos de antibióticos en laboratorio, mediante la prueba en placa con el *Bacillus subtilis*, se debe evitar la contaminación de las muestras de tejido diafragmático y de las placas de cultivo, ya que las bacterias son extremadamente sensible.
- En los centros de beneficio de animales se deben mejorar las medidas de inocuidad alimentaria, prestando énfasis en la presencia de residuos de antimicrobianos en las canales por parte de los municipios locales.
- 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](http://www.codexalimentarius.net/vetdrugs/data/MRL2_s_2012.pdf)
- CRAVZOV, A. L., AVALLONE, C. M., DUPERTUIS, P. I. (2002).** Detección instrumental de antibióticos en alimentos. Facultad de Agroindustrias UNNE. Departamento de Química. Chaco- Argentina.
- CUERVO, L. 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.

**DANIEL, W. (1996).** *Bioestadística base para el análisis de la ciencia de la salud*. 3<sup>ra</sup> Ed. Editorial LIMUSA. México. Pág. 657 – 665.

**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>

**DOYLE M.E. (2006).** Veterinary drug residues in processed meats - potential health risk. Food Research Institute (FRI Briefings); [Agosto 2006] URL: [http://www.wisc.edu/fri/briefs/FRIBrief\\_VetDrgRes.pdf](http://www.wisc.edu/fri/briefs/FRIBrief_VetDrgRes.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>

**FERNÁNDEZ 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>
- KABIR J, UMOH VJ, AUDU-OKOH E, UMOH JU, KWAGA JKP. (2004).** Veterinary drug use in poultry farms and determination of antimicrobial drug residues in commercial eggs and slaughtered chicken in Kaduna State, Nigeria. Food Control 2004; 15:99-105.
- 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.
- MANGER J. ASBURY C. 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.
- 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:



- MEYLING, D. (2014).** Residuo de antibióticos en carne de vacunos, Repositorio de tesis de la UNA (Universidad Nacional Agraria). Facultad en Ciencia Animal, Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Managua.
- 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.
- 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 E. (2012).** El riesgo de usar antibióticos en animales. Obtenido de BBC MUNDO:  
[http://www.bbc.co.uk/mundo/noticias/2012/04/120412\\_antibioticos\\_animales\\_resistencia\\_men.shtml](http://www.bbc.co.uk/mundo/noticias/2012/04/120412_antibioticos_animales_resistencia_men.shtml)

**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>

**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.

**PIEDAD M., MONTERO Y, JOSÉ D.C. y JAIMES. E (2002).** Determinación de

Antibióticos y Calidad Microbiológica de la Carne de Pollo Comercializada en Cartagena (Colombia) Diofanor Acevedo\*, Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, Departamento de ingeniería de Alimentos. Cartagena, Bolívar-Colombia.

**QUINTANA, H. (2009).** Estadística Inferencial. Separata Maestría en Salud Pública.

Universidad Nacional Mayor de San Andrés, La Paz – Bolivia.

**RICO, S., FERRARO, D. (1999).** Residuos de medicamentos de uso veterinario.

Aprocal, 1–22. Disponible en

<http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

**SALIM, M. CALDERON, A, TORDECILLA, G. SOTELO D. (2008).** Detección de

antibióticos en leche. Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba. Montería, Colombia. mattarsalim@hotmail.com

**VACA A.C. (2003).** Aspectos regulatorios de los medicamentos veterinarios

registrados en Colombia e incluidos en el Codex Alimentarius”. Tesis Médico Veterinario, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2003. 49p.

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

**ZARAZAGA M. y TORRES C. (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](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: 0.9470
- Significancia: significativo ( $P \geq 0.05$ ).

### B) PRUEBA DE JI CUADRADA PARA EDAD

- Nivel de significancia: 3.84
- Confiabilidad: 95%
- Valor de Ji cuadrada: 0.2408
- Significancia: no significativo ( $P \geq 0.05$ ).

### C) PRUEBA JI CUADRADA PARA RAZA

- Nivel de significancia: 9.41
- Confiabilidad: 95%
- Valor de Ji cuadrada: 2.80
- Significancia: no significativo ( $P \geq 0.05$ ).

### D) PRUEBA DE JI CUADRADA PARA PROCEDENCIA

- Nivel de significancia: 10.74
- Confiabilidad: 95%
- Valor de Ji cuadrada: 0.3808
- Significancia: no significativo ( $P \geq 0.05$ ).

**ANEXO ANDEVA.****ANÁLISIS DE VARIANZA PARA HALO DE INHIBICIÓN SEGÚN EL SEXO**

F de V	Suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Sexo	584,340	1	584,340	4,780	0,031
Error	16014,035	131	122,245		
Total	16598,375	132			

**ANÁLISIS DE VARIANZA PARA HALO DE INHIBICIÓN SEGÚN EDAD**

F de V	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Edad	14,374	1	14,374	0,114	0,737
Error	16584,002	131	126,595		
Total	16598,375	132			

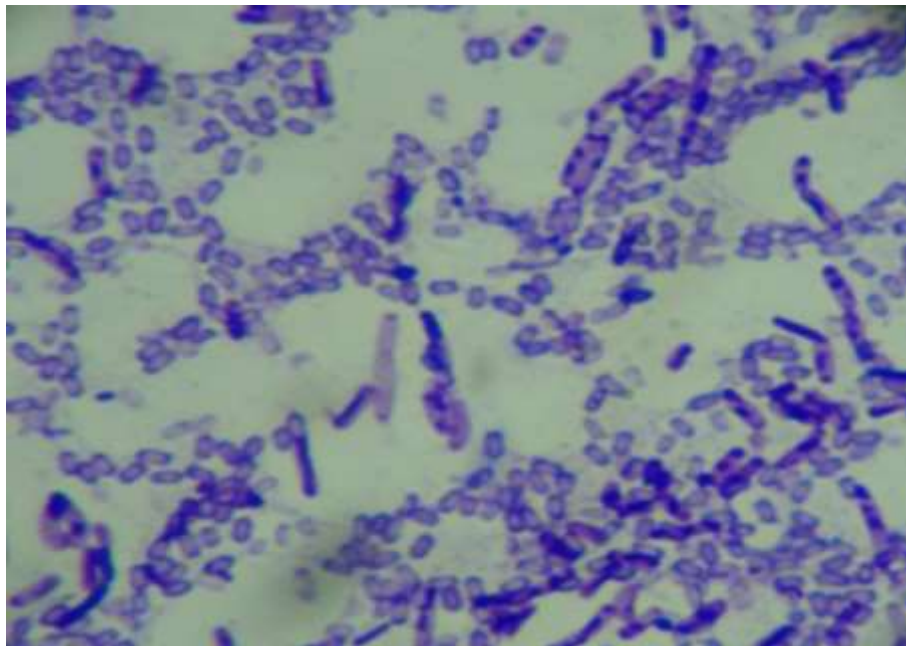
**ANÁLISIS DE VARIANZA PARA HALO DE INHIBICIÓN SEGÚN RAZA**

F de V	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Raza	684,635	2	342,317	2,796	0,065
Error	15913,741	130	122,413		
Total	16598,375	132			

**ANÁLISIS DE VARIANZA PARA HALO DE INHIBICIÓN SEGÚN PROCEDENCIA**

F de V	Suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Procedencia	461,648	3	153,883	1,230	0,301
Error	16136,728	129	125,091		
Total	16598,375	132			

**ANEXO: FOTOS**



**Foto 1: *Bacillus subtilis***



**Foto 2: extracción del microorganismo**



**Foto 3: turbidez de McFarland**



**Foto 4: medio de cultivo en placas**



**Foto 5: extracción de tejido diafragmático**



**Foto 6: extracción de muestra con ayuda del sacabocado**

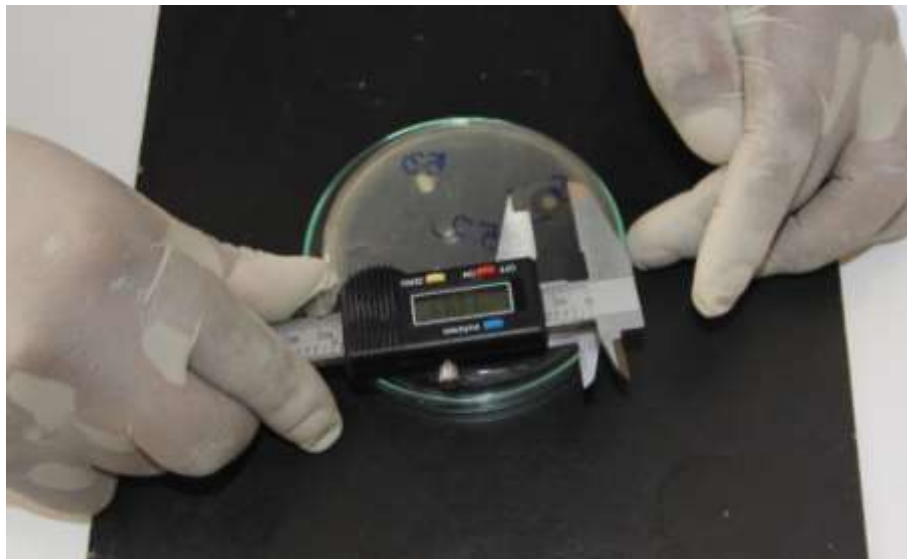




**Foto 7: sembrado de muestras**



**Foto 8: cultivo de muestras**



**Foto 9: medición de halos de inhibición**



**Foto 10: placa positiva a residuos de antibiótico**