FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

COMPROBACIÓN DEL INGRESO DE LECHE CRUDA CON RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS A LAS PLANTAS PROCESADORAS EN LA CIUDAD DE MACHACHI MEDIANTE EL USO DE TIRAS REACTIVAS

Autor

Humberto David Cañizares Valencia

Año
2018

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

COMPROBACIÓN DEL INGRESO DE LECHE CRUDA CON RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS A LAS PLANTAS PROCESADORAS EN LA CIUDAD DE MACHACHI MEDIANTE EL USO DE TIRAS REACTIVAS

"Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista".

Profesora guía

María José Amores Villacrés

Autor

Humberto David Cañizares Valencia

Año

2018

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, Comprobación del ingreso de leche cruda con residuos de antibióticos a las plantas procesadoras en la ciudad de Machachi mediante el uso de tiras reactivas, a través de reuniones periódicas con el estudiante Humberto David Cañizares Valencia, en el semestre 2018-2, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.

María José Amores Villacrés

Ingeniera Agropecuaria.

C.I.: 1711857134

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Comprobación del ingreso de leche cruda con residuos de antibióticos a las plantas procesadoras en la ciudad de Machachi mediante el uso de tiras reactivas, de Humberto David Cañizares Valencia, en el semestre 2018-2, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

David Francisco Andrade Ojeda

Médico Veterinario y Zootecnista

C.I.: 1712693165

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

Humberto David Cañizares Valencia

C.I: 1722111513

AGRADECIMIENTOS

A mis padres David Cañizares y Elena Valencia por brindarme su apoyo incondicional en todas mis propuestas, a mis hermanos por ayudarme durante toda mi carrera estar siempre al pendiente de mí. A mi novia por darme la motivación más grande que tengo mi hija.

Un sincero agradecimiento para la ING. María José Amores por compartir sus experiencias en estudios de investigación y sobre todo por regalarme su tiempo tan valioso.

Finalmente un agradecimiento muy grande para los propietarios y representantes de cada lugar al que me permitieron el ingreso a sus instalaciones para poder realizar mi investigación.

DEDICATORIA

Este trabajo quiero dedicar a mi familia por ser un apoyo en toda mi formación académica, para así llegar a ser un profesional entregado a su deber.

A mi novia porque me apoyo en mi trabajo estuvo al pendiente de mí todo el tiempo de mi investigación.

A mi hija que gracias a ella nunca me deje abandonado mi trabajo para que en su futuro ella sea mejor que yo.

A mis amigos Mayrita, Adela y Milton que gracias a ellos el periodo de estudio que compartimos siempre fue ameno y se creó una amistad muy sincera.

RESUMEN

El Cantón Mejía es considerado como la “primera cuenca lechera del país” por los niveles y especialización en la producción lechera, gracias a su buena ubicación geográfica, la leche producida en el cantón, es procesada por plantas lecheras importantes y también por pequeñas empresas familiares, que producen quesos principalmente y otros derivados que se comercializan dentro del cantón e incluso en lugares más alejados. El nivel de influencia que tiene en el mercado, hace necesario considerar la calidad e inocuidad del producto que se distribuye, particularmente la presencia de residuos de antibióticos que son usados en la práctica ganadera común.

El presente estudio analítico observacional descriptivo consideró comprobar la presencia de antibióticos en leche cruda producida dentro del Cantón Mejía que se destina al consumo humano. Se recolectaron 40 muestras en 8 centros de acopio y plantas procesadoras.

Las muestras fueron tomadas siguiendo el protocolo establecido por AGROCALIDAD y analizadas con una tira reactiva TRISENSOR que detecta tres familias de antibióticos: betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas. Las muestras que no fueron negativas pasaron a hacer analizadas por el laboratorio.

Se realizaron análisis estadísticos descriptivos y tablas de frecuencias para validar los datos., Se observaron un 15% de muestras positivas con la tira reactiva y 7.5% de muestras positivas analizadas en el laboratorio. De todas las muestras positivas solo se encontró una familia de antibióticos siendo está la familia de Betalactámicos. Entre los Intervalos de confianza tenemos que 0.042 [0.007-0.15] IC al 95%, para las muestras positivas. El resultado para la prueba de Fisher que relaciona el lugar con la presencia de antibióticos fue de 0.886 al 95%. Entre los intervalos de confianza tenemos que al 95%

La presencia de antibióticos no tiene predilección por lugares específicos, teniendo única aparición los betalactámicos.

ABSTRACT

Canton Mejía is considered the "first dairy basin of the country" for the levels and specialization in dairy production, thanks to its good geographical location, the milk produced in the canton, is processed by important dairy plants and also by small family businesses, that produce mainly cheeses and other derivatives that are commercialized within the canton and even in more distant places. The level of influence it has in the market, makes it necessary to consider the quality and safety of the product that is distributed, particularly the presence of antibiotic residues that are used in common livestock practice.

The present descriptive observational analytical study considered the presence of antibiotics in raw milk produced within the Mejía Canton that is intended for human consumption. 40 samples were collected in 8 collection centers and processing plants.

The samples were taken following the protocol established by AGROCALIDAD and analyzed with a TRISENSOR test strip that detects three families of antibiotics: beta-lactams, tetracyclines and sulfonamides. The samples that were not negative were analyzed by the laboratory.

Descriptive statistical analyzes and frequency tables were used to validate the data. 15% positive samples were observed with the test strip and 7.5% positive samples analyzed in the laboratory. Of all the positive samples, only one family of antibiotics was found, this being the family of beta-lactam antibiotics. Among the Confidence Intervals we have 0.042 [0.007-0.15] 95% CI, for positive samples. The result for the Fisher test that relates the place with the presence of antibiotics was 0.886 to 95%. Between the confidence intervals we have to 95%

The presence of antibiotics has no predilection for specific sites, with only beta-lactam antibiotics appearing.

ÍNDICE

Capítulo I. Introducción 1
1.1 Objetivos 2
1.1.1 Objetivo General 2
1.1.2 Objetivos Específicos 2
1.2 Hipótesis 2
Capítulo II. Marco Teórico 3
2.1. Lactogénesis 3
2.2. Características organolépticas y composición nutricional de la Leche 3
2.3 Importancia del consumo de leche para el ser humano 5
2.4. Leche Cruda 6
2.5 Leche Contaminada 7
2.6 Inhibidores de la leche 7
2.6.1 Antibióticos en Leche 7
2.6.2 Efectos en la Industria Láctea 8
2.7 Antibióticos más utilizados en ganadería. 9
2.7.1 Sulfonamidas 9
2.7.2 Tiempo de retiro 10
2.7.3 Betalactámicos 10
2.7.4 Tiempo retiro para los Betalactámicos 11
2.7.5 Cefalosporinas 11
2.7.6 Tiempo de retiro 12
2.7.7 Tetraciclinas 12
2.8 Métodos de Detección de Antibióticos en Leche 13
2.8.1 Método de Campo 13
2.8.2 Método de Laboratorio 13
Capitulo III. Materiales y Métodos 15
3.1 Área de Estudio 15
3.1.1 Diseño del estudio 16
3.2 Población y Muestra 16

3.2.2 Población 16
3.2.3 Cálculo de la muestra..... 18
3.3 Materiales 20
3.4 Metodología 20
3.4.1 Toma de Muestras 20
3.4.2 Identificación de Antibióticos con tira reactiva 23
3.4.3 Prueba de laboratorio 25
3.4.4 Variables 26
3.5 Análisis estadístico 26
Capitulo IV. Resultados..... 28
4.1 Presencia o ausencia de antibióticos mediante Trisensor®..... 28
4.2 Presencia o ausencia de antibióticos mediante laboratorio 28
4.3 Análisis de los antibióticos encontrados 29
4.4 Relación entre los resultados de la prueba Trisensor y el Lugar de muestreo..... 29
4.6 Test de Fisher para Betalactámicos y Lugar..... 31
4.7 Discusión. 32
4.7 Limitantes. 34
Capitulo V. Conclusiones y Recomendaciones. 36
5.1 Conclusiones. 36
5.2 Recomendaciones. 36
REFERENCIAS..... 38
ANEXOS 41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Composición Nutricional de la leche de vaca 4

Tabla 2 Composición de algunos tipos de leche. 6

Tabla 3 Categorización de las penicilinas 11

Tabla 4 Clasificación de las Cefalosporinas 12

Tabla 5 Tiempo de retiro de algunas Tetraciclinas. 13

Tabla 6 Plantas y Centros de Acopio del Cantón Mejía 17

Tabla 7 Centros de Acopio y Plantas Muestreadas..... 19

Tabla 8. Horario de la toma de muestras. 22

Tabla 9. Variables 26

Tabla 10. Frecuencia de resultados de la tira Trisensor® evaluados en porcentaje..... 28

Tabla 11 Frecuencia de resultados de los análisis de laboratorio evaluados en porcentaje..... 28

Tabla 12. Porcentajes de antibióticos encontrados. 29

Tabla 13. Tabla cruzada de los resultados..... 29

Tabla 14. Test de Fisher para Trisensor®..... 30

Tabla 15. Tabla cruzada de los resultados..... 30

Tabla 16. Test de Fisher para Laboratorio 31

Tabla 17. Tabla cruzada Lugar Betalactámicos 31

Tabla 18. Test de Fisher para Betalactámicos y Lugar 32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa Político del Cantón Mejía. 15
Figura 2. Diagrama de Flujo de toma de muestras y análisis..... 23
Figura 3. Interpretación de Resultados Kit Trisensor. 25

Capítulo I. Introducción

La determinación de antibióticos (inhibidores) presente en la leche cruda bovina es un tema de importancia, tanto como para los productores, procesadores y consumidores; ya que el cómo manifiesta el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC), en el 2016 el 77,21% del total de leche producida en el país es destinada para el consumo humano (INEC, 2016).

En el Ecuador se registra una producción de 5´millones de litros de leche en el 2016. Por su parte la región Sierra tiene una producción de 4 millones litros de leche, a su vez la provincia de Pichincha tiene una producción de 845,963 litros de leche (INEC, 2016), siendo así el 15,90% de la producción nacional, ubicándola en el primer lugar de la producción lechera del país. En el Cantón Mejía la producción es de 220,666 litros de leche de leche diaria (GAD Municipal, 2015), dentro de esta producción de leche se entregan a plantas procesadoras, centros de acopio y para venta en panaderías.

El problema de los residuos de antibióticos en la leche se ha vuelto un problema a nivel mundial y de Salud Pública, por la aparición de cepas resistentes a los antibióticos (Sotelo, Mattár, Calderón, Sierra, & Tordecilla, 2009).

Los antimicrobianos empleados en el sector ganadero son usados con diferentes propósitos entre los más comunes tenemos: como promotores de crecimiento, usos terapéuticos para enfermedades y como profilaxis; mientras tanto el uso descomunal de los antimicrobianos es el primer factor en la generación y aparecimiento de cepas resistentes. Entre las enfermedades más comunes para el uso de antibióticos tenemos a la mastitis, neumonía, entre otras. Un uso nuevo es en las vacas no lactantes para profilaxis, en este caso los residuos de los antibióticos no se ven reflejados en periodos largos de lactancia. Desde otro punto de vista las afecciones que la leche con trazas de antibióticos puede provocar en los seres humanos son: shock anafilácticos, sobre crecimientos, disminución en la síntesis de vitaminas, crecimiento de microorganismos patógenos, no dejando de lado la resistencia que estos pueden provocar a

mediano o largo plazo (Sotelo, Mattár, Calderón, Sierra, & Tordecilla, 2009, págs. 579-581).

Con estos motivos expuestos, en la presente investigación se estableció la comprobación de antibióticos presentes en los centros acopiadores de leche bovina e industrias pequeñas que procesen leche bovina en el Cantón Mejía mediante pruebas de diagnóstico rápido con la comprobación de muestras positivas mediante laboratorio para tener una comercialización de leche de calidad.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo General

Comprobar el ingreso de leche cruda con antibióticos a las plantas procesadoras, mediante el uso de tiras reactivas pruebas de laboratorio para un mejor control de la leche que se consume en el Cantón Mejía.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Colectar muestras de leche cruda siguiendo el protocolo de muestreo establecido por Agrocalidad, para el análisis con tiras reactivas y prueba de laboratorio.
- Evaluar el tipo de antibiótico presente en las muestras que fueron positivas a las pruebas utilizadas en plantas y centros de acopio.
- Relacionar el tipo de antibiótico encontrado en la leche cruda analizada con plantas o centros de acopio.

1.2 Hipótesis

En algunos centros de recolección de leche cruda del Cantón Mejía se permite el ingreso de leche con residuos de antibióticos.

Capítulo II. Marco Teórico

2.1. Lactogénesis

La lactogénesis es un proceso por el cual sustancia como vitaminas, minerales, entre otros viajan por la sangre para llegar al tejido glandular ubicadas en la glándula mamaria, para ser transformadas en leche y arrastrar todas las sustancias (Espadas, 2006).

Los antibióticos que ingresan al torrente sanguíneo, viajan por todo el cuerpo albergándose en los lugares de acción y el restante se excreta por heces, orina, leche, etc. Siendo así como pasan a la leche (Espadas, 2006).

2.2. Características organolépticas y composición nutricional de la Leche

La lactosa al ser un azúcar proporciona un sabor dulce a la leche, en el caso del olor las grasas que contiene la leche le dan ese olor característico. Sin embargo la leche puede adquirir olores diferentes cuando las vacas como pastos de diferente calidad, cuando la leche se encuentra en contacto con pintura, materiales que desprende olores o establos con malos olores la leche puede adquirir estos olores desagradables; tomando en cuenta que la leche es rica en nutrientes, la proliferación de bacterias puede cambiar las características organolépticas de la leche (Duran Ramirez, 2009).

En la Tabla 1 podemos observar los aportes nutricionales que proporciona la leche al ser consumida.

La leche cruda debe contener las siguientes particularidades organolépticas: el color debe ser ligeramente amarillento o un blanco opaco, el olor debe ser lácteo característico, aspecto debe estar libre de materias extrañas (INEN, 2008).

Tabla 1

Composición Nutricional de la leche de vaca

Nutriente	Por 100 gramos	Por 250 gramos
Energía (Kcal)	66	165
Proteínas (g)	3,3	8,3
Lípidos (g)	3,6	9,0
AG saturados (g)	1,95	4,18
AG monoinsaturados (g)	0,93	2,33
AG poliinsaturados (g)	0,09	0,23
v-3 (g)	0,016	0,040
C18:2 Linoleico (v-6) (g)	0,068	0,0170
Colesterol (mg/1000 kcal)	14	35
Hidratos de carbono (g)	5	12,5
Fibra (g)	0	0
Agua (g)	88,1	220
Calcio (mg)	121	303
Hierro (mg)	0,1	0,3
Yodo (µg)	90	225
Magnesio (mg)	12	30
Zinc (mg)	0,3	0,8
Sodio (mg)	50	125
Potasio (mg)	150	375
Fósforo (mg)	92	230
Selenio (µg)	1	2,5
Tiamina (mg)	0,04	0,10
Riboflavina (mg)	0,18	0,45
Equivalentes Niacina (mg)	0,8	2,0
Vitamina B6 (mg)	0,04	0,10
Folatos (µg)	5	12,5
Vitamina B12 (µg)	0,3	0,8
Vitamina C (mg)	1,8	4,5
Vitamina A: Eq. Retinol (µg)	38,7	96,8
Vitamina D (µg)	0,03	0,08
Vitamina E (mg)	0,1	0,3

Adaptado de (Agudelo Gomez & Mejia Bedoya, 2005)

2.3 Importancia del consumo de leche para el ser humano

Entre la alimentación de los seres humanos tenemos productos de origen animal y entre estos tenemos como una de las principales es la leche de vaca. El alto valor nutricional la hace un ingrediente indispensable en la dieta tanto de niños, adultos (Agudelo Gomez & Mejia Bedoya, 2005, pág. 38).

“Los productos lácteos, como la leche, queso y el yogur, son buenas fuentes de calcio, proteínas, energía y vitaminas del complejo B” (OMS, 2010).

Estudios elaborados por la Organización Mundial de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud, se establece que los bebes de entre 6 a 23 meses de nacidos necesitan ingerir de entre 200 a 400 ml, de leche o yogur para completar la alimentación de origen animal que este reciba, si no consume alimentos de origen animal de entre 300 a 500 ml de leche o yogur (OMS, 2010).

En 601 niños se realizó un estudio en Córdoba, Argentina. Donde los niños del segundo y tercer mes redujeron el exclusivo consumo de leche materna complementándose con el consumo de leche de vaca; de los 601 niños el 38% al cuarto mes elevo la ingesta de la leche de vaca; el 52% de los niños desde los 6 meses de edad consumieron en mayor proporción alimentos elaborados con leche de vaca y a partir del año de edad la leche materna fue reemplazada por la leche de vaca (Albarenque, y otros, 2005).

En la Tabla 2, se puede observar el aporte nutricional de algunos tipos de leche.

Tabla 2

Composición de algunos tipos de leche.

	Agua	Proteínas	Lípidos	Glúcidos	Minerales
Mujer	87	1,1	4,5	7,6	0,3
Vaca	88	3,2	3,4	4,7	0,7
Búfala	82	4	7,5	4,8	0,8
Oveja	82	5,5	7	4,3	0,9
Cabra	86	3,8	4,3	4,6	0,8
Burra	90	1,6	1,1	6,5	0,5
Yegua	89	2,1	1,7	6,1	0,4
Camella	87	3,4	4,1	3,8	0,7

Tomado de (Cabrera, Carbajal, Cuadrado, & Moreiras, 2013)

Siendo así la leche de vaca un alimento muy eficiente para el crecimiento de los menores a un año, tanto por su aporte energético y proteico similar a la leche materna.

2.4. Leche Cruda

Entendiéndose como leche cruda a toda leche que no ha recibido ningún tipo de tratamiento térmico que haya sobrepasado los 40°C, que no haya sido modificada de ninguna manera desde el momento de su extracción, con excepción el enfriamiento para su transporte y conservación (INEN, 2008).

En el Manual de Leche proporcionado por AGROCALIDAD existe una definición similar que dice:

“Producto de la secreción normal de las glándulas mamarias, obtenida a partir del ordeño integro e higiénico de vacas sanas, sin adición ni sustracción alguna, exento de calostro y libre de materias extrañas a su naturaleza, destinada al consumo humano en su forma natural o a la elaboración de subproductos. Esta denominación se aplica para la leche que no ha sufrido

tratamiento térmico, salvo el de enfriamiento para su conservación, ni ha tenido modificación alguna en su composición natural” (AGROCALIDAD, 2013).

2.5 Leche Contaminada

Toda leche a la que se le ha sustraído un porcentaje o totalidad de uno o varios componentes naturales; o su vez se le han añadido componentes ajenos a la composición natural de está, viéndose afectada la salud humana o animal (Dávila, 2010, pág. 2)

La leche que sea designada para exportaciones, no debe contener trazas o residuos de ningún tipo de antibióticos según la resolución dispuesta por la OMC, en el caso de la comercialización dentro de los países pertenecientes a la OMC, para que la leche sea comercializada deben estar dentro de los parámetros establecidos por la entidad reguladora de cada país” (OMC, 2003, págs. 31-37).

2.6 Inhibidores de la leche

Los inhibidores de la leche son sustancias químicas o biológicas que suministradas al animal esta sustancia se mantenga como metabolito en los productos que el animal proporcione, causando efectos nocivos al consumidor. Entre las sustancia más usadas en el sector pecuario se encuentra los antibióticos, siendo estos usados en diversas áreas y diversas aplicaciones entre las más utilizadas tenemos como promotores de crecimiento, control de infecciones, desinfecciones, entre otros, al ser los antibióticos los más utilizados, también son los que más residuos encontraremos (Calderón, Mattár, Sierra, Sotelo, & Tordecilla, 2009, pág. 580).

2.6.1 Antibióticos en Leche

El incremento que ha tenido la producción de leche se debe a diferentes factores, entre uno de los más relevantes tenemos a los agentes antimicrobianos que ayudan tanto al tratamiento de enfermedades infecciosas como a promotores de crecimiento, cuando el uso clínico es inadecuado estos producen residuos o trazas en la leche creando así a pequeño o largo plazo una resistencia a los

antimicrobianos por parte de las personas que consuman esta leche, generando un problema de Salud Pública (Ramírez, y otros, 2001).

El Limite Maximo de Residuos (LMR) se define como la máxima concentración que puede presentar un alimento de origen animal sin que ello pueda causar o suponga un riesgo para la salud del consumidor. Este LMR se estableció para asegurar y mantener integra la salud del consumidor evitando así posibles adversidades que pudieran generar. El LMR se expresa en mg/kg de alimento (FAO, 1990).

La administración de cualquier sustancia o tratamiento químico al animal puede producir residuos en los productos comestibles que el animal proporcione. (González, Landeros, Noa, Noa-Lima, & Reyes, 2009)

El uso de antibióticos puede producir efectos tóxicos, dentro de los efectos tóxicos tenemos a los efectos directos, que son los que pueden presentarse cuando el uso de antibióticos es de forma terapéutica pudiendo así presentar daños en el consumidor. Estos daños pueden verse reflejados en forma clínica como toxicidad, efectos teratógenos y carcinogénicos (Ferraro, 2006).

Dentro de los efectos tóxicos indirectos se presenta las alergias a los antibióticos y la resistencia bacteriana, dentro de la resistencia bacteriana una de las principales causas es el uso repetitivo de los antibióticos para el tratamiento de varias enfermedades (Calderón, Mattár, Sierra, Sotelo, & Tordecilla, 2009).

Las entidades de control de los alimentos hacen énfasis en el control de la venta de alimentos de origen animal con residuos o trazas de antibióticos debido a los efectos que pueden causar al consumidor (Calderón, Mattár, Sierra, Sotelo, & Tordecilla, 2009).

2.6.2 Efectos en la Industria Láctea

El yogur y el queso son los principales productos lácteos consumidos, son obtenidos a base de la leche, para la elaboración de estos se necesita un cultivo iniciador, que a su vez este cultivo es altamente sensible a la presencia de

antibióticos en la leche, cuando la leche se encuentra con residuos de antibióticos estos inhiben la formación de las bacterias iniciadoras causando un efecto negativo para la industria láctea debido a que para la formación del cultivo tienen que utilizar más materia prima o por otro lado desechar la leche contaminada (González, Landeros, Noa, Noa-Lima, & Reyes, 2009).

Los fermentos lácticos también son producidos por bacterias que a su vez se ven afectadas por la presencia de antibióticos (Allara, Izquierdo, Rodríguez, & Torres, 2005).

La presencia de penicilina de 0,01 ul / ml en leche, ha provocado fallas en los quesos de tipo Gruyere, también la hinchazón precoz de coliformes en quesos con presencia de penicilina en bajas concentraciones. En otro caso las sulfas no quedan desactivas después de la pasteurización, ni por la esterilización (Ferraro, 2006).

2.7 Antibióticos más utilizados en ganadería.

Los antibióticos que se utilizan con más frecuencia para el tratamiento, control y profilaxis en ganadería son los siguientes:

Betalactámicos.

Tetraciclinas.

Sulfonamidas.

Debido a que estas tres familias son las más utilizadas son las que se van a analizar en esta investigación.

Dando a continuación una breve reseña de cada uno.

2.7.1 Sulfonamidas

La actividad antimicrobiana variable de las sulfonamidas contra las bacterias del grupo Gram positivas y negativas depende de la cantidad de antibiótico que se utilice, con una concentración relativamente baja de sulfonamidas se puede tener un efecto bacteriostático (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

La acción sinérgica del trimetoprim conjuntamente con las sulfonamidas se ha vuelto una de las primeras alternativas para el tratamiento de algunas

enfermedades, debido a que este sinergismo tiene una buena distribución a nivel local y las cualidades farmacocinéticas de estos ayudan a bajar los días de tratamiento (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

2.7.2 Tiempo de retiro

La sulfametazina tiene un tiempo de retiro de 96 horas para el ganado lechero, siendo utilizada en concentración de 150 a 247 miligramos por kilogramo. La sulfadimetoxina aplicada por vía intravenosa a concentraciones de 400 miligramos por kilogramo tiene un retiro en leche de 60 horas (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

2.7.3 Betalactámicos

La principal característica de estos antibióticos es contar con un anillo betalactámico en su estructura molecular. Esta familia tiene varios grupos en los cuales están: inhibidores de las betalactamasas, monobactamas, carbapenemas, cefalosporinas y penicilinas (Gudiol & Marín, 2002).

El grupo de las penicilinas es el más generoso desde el punto de vista de su baja toxicidad y alta eficacia. En la Tabla 3 podemos observar de mejor manera una categorización clara de las penicilinas. La fenoximetilpenicilina y penicilina G en varias formas son las que se utilizan a nivel de clínica (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

Tabla 3

Categorización de las penicilinas.

Naturales	Aminopenicilinas	De amplio espectro	Resistentes a penicilinasa
G Benzatinica		Clavulánico	Mexicilina
G Potásica	Amoxicilina	Carbenicilina	Dicloxacilina
G Procaínica	Hetacilina	Combinaciones con ácido	Nafcilina
			Fluxoxicilina
G Sódica	Ampicilina	Ticarcilina	Cloxacilina

Adaptado de (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006)**.**

2.7.4 Tiempo retiro para los Betalactámicos

Los residuos detectables para la penicilina G potásica en leche absorbida por vía uterina son de hasta 12 horas, por lo que el tiempo establecido de retiro para esta penicilina es de 24 horas para leche.

La penicilina G benzatínica, el tiempo de retiro depende de la técnica analítica utilizada para vacas lecheras es de 20.

Entre los problemas para el ser humano que puede presentar la penicilina se encuentran sujetos alérgicos a este antibiótico (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

2.7.5 Cefalosporinas

Las cefalosporinas constituyen un conjunto fluctuante que abarca un uso específico para bacterias Gram positivas, pero en otros casos un uso como amplio espectro en bacterias Gram negativas, en la Tabla 4 se presenta una clasificación resumida de las Cefalosporinas.

Por vía intramamaria estas constituyen un gran recurso para el control de mastitis.

La eliminación de las cefalosporinas se realiza por filtración glomerular, por secreción tubular renal o como en la mayoría de casos por las dos vías.

Tabla 4

Clasificación de las Cefalosporinas

Primera Generación	**Segunda Generación**	**Tercera Generación**	**Cuarta Generación**
Cefacetrilo	Cefmetazol	Ceftiofur	
Cefalexina			
Cefalozina	Cefonicida	Ceftriaxona	Cefquinoma
Cefalotina	Cefamandol	Cefotaxima	Cefepima
Cefapirina	Cefuroxima	Cefoperazona	Cefpiroma

Adaptado de (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

2.7.6 Tiempo de retiro

Cuando las dosis recomendadas se respetan las concentraciones en leche no se encuentran o son más bajas de los límites de residuos permitidos. Las cefalosporinas de tercera generación tienen un retiro posiblemente sea de 12 a 24 horas, aunque su excreción sea por leche (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

2.7.7 Tetraciclinas

Las tetraciclinas son antibióticos de amplio espectro, siendo las más comunes en la utilización dentro de la veterinaria se debe respetar estrictamente los tiempos de retiro (véase Tabla 5); tienen un efecto de acción menor en Gram negativas y un eficaz desempeño en bacterias Gram positivas.

Tabla 5

Tiempo de retiro de algunas Tetraciclinas.

Tetraciclina	Vía oral(VO)	Vía Intramuscular(IM)
Clortetraciclina	5 días	--
Tetraciclina	5 días	--
Doxiciclina	10 días	60 días
Oxitetraciclina	5 días	45 días

Adaptado de (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

2.8 Métodos de Detección de Antibióticos en Leche

2.8.1 Método de Campo

En esta investigación el método de campo usado fue el kit Trisensor® debido a que es un método fácil de usar, basado en un ensayo competitivo de dos receptores, también nos permite el detectar las tres familias de antibióticos en una sola prueba.

El ensayo tiene dos componentes un micropozo con una cantidad de anticuerpos y dos los dos receptores ligados a partículas de oro y el otro componente es una tira con líneas específicas que determinan el resultado.

“Al agregar una muestra de leche el reactivo del micropozo, receptores y anticuerpos monoclonales se unen a los analitos correspondientes si están presentes durante los primeros tres minutos de incubación a 40°C. Este método permite detectar tres familias de antibióticos presentes en leche: Betalactámicos, Sulfonamidas y tetraciclinas, en una sola prueba” (AGROCALIDAD, 2013).

2.8.2 Método de Laboratorio

La base de los ensayos inmunológicos está en la utilización de anticuerpos como reactivos. El uso de los ensayos inmunológicos abarca un grupo grande para la

identificación de fármacos terapéuticos y no terapéuticos, aplicándose así en cualquier liquido biológico que se quiera analizar, por ejemplo líquido cefalorraquídeo, orina, leche, suero, etc.

“La prueba ELISA se basa en varias teorías: 1)El antígeno y anticuerpo pueden enlazarse a una superficie portadora insoluble y retener su reactividad inmunológica; 2)las enzimas tienen actividad específica alta y convierten una cantidad relativamente grande de sustrato en producto detectable, lo que permite detectar concentraciones muy bajas del ligando; 3) la actividad enzimática o reactividad inmunológica de los conjugados se preserva y permanece estable durante el análisis y el almacenamiento; y 4) las enzimas no están presentes en el líquido biológico que se va a analizar” (Guzmán, 2004).

Investigadores del Consejo Superior de Investigaciones Científicas desarrollaron un método rápido y sensible que permite detectar la betalactamicos en leche, dentro de los antibióticos que permite detectar se encuentran seis tipos de penicilinas. En tan solo quince minutos el sistema es capaz de detectar diez tipos de antibióticos con una sensibilidad que está por debajo de los límites de concentraciones permitidas por la Unión Europea (Centro Superior de Investigaciones Científicas, 2009).

Capitulo III. Materiales y Métodos

3.1 Área de Estudio

Este trabajo de titulación fue desarrollado en el Cantón Mejía en 3 centros de acopio y 5 plantas procesadoras de leche, que reciben a diario de 1500 a 6000 litros de leche provenientes de varias zonas del Cantón.

Mejía consta de las siguientes parroquias rurales: El Chaupi, Uyumbicho, Tambillo, Tandapi, Alóag, Aloasí, Cutuglagua y su cabecera cantonal Machachi (GAD Municipal, 2015), en la Figura 1 se observa la división política del Cantón Mejía.

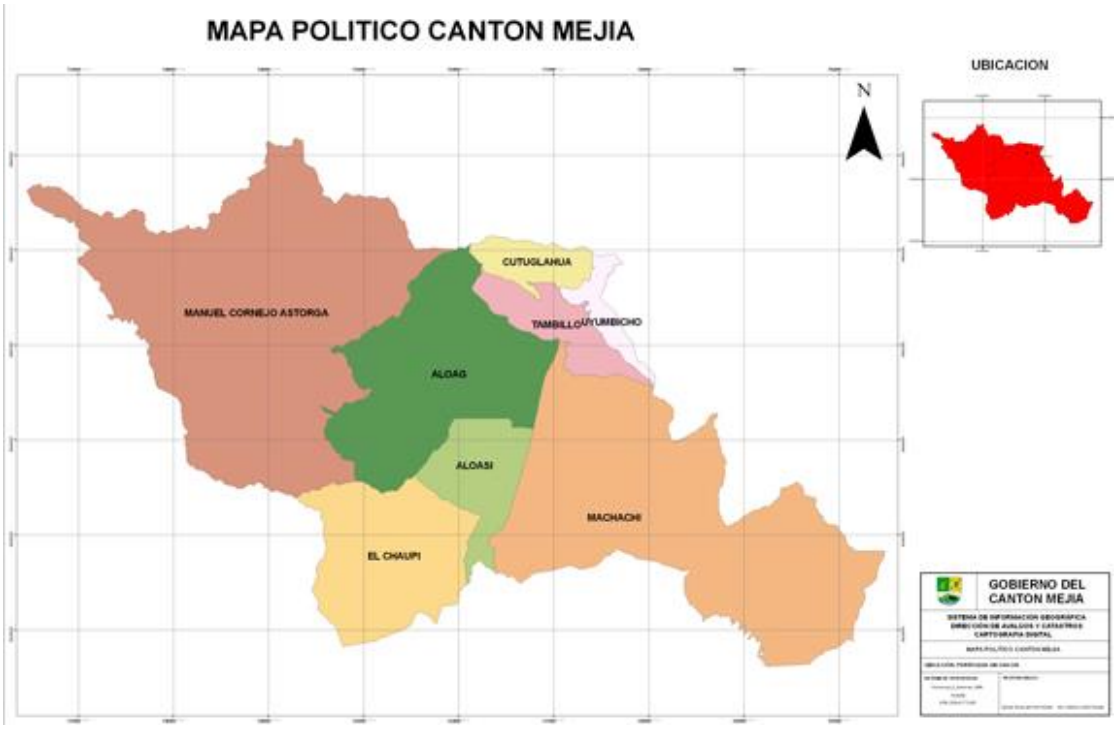

Figura 1. Mapa Político del Cantón Mejía. Adaptado de (GAD Municipal, 2015).

La población del Cantón Mejía es de aproximadamente 62.888 personas según los datos proporcionados por el INEC (INEC, 2016).

Siendo la producción de leche diaria del Cantón Mejía de 220,666 litros de leche diaria, con un total de 55,531 cabezas de ganado divididas en un total de 2722 UPAs, dando un promedio de producción de 3,97 litros por cabeza (GAD Municipal, 2015).

3.1.1 Diseño del estudio

Fue un estudio analítico observacional de corte transversal entre las fechas del 14 de abril al 14 de mayo del 2018, que consistió en la identificación de antibióticos con el test TRISENSOR en la leche cruda de vaca de plantas y centros de acopio del Cantón Mejía.

En total se tomaron 40 muestras de 8 centros de recolección de leche cruda, considerando los criterios de inclusión y exclusión posteriormente descritos.

3.2 Población y Muestra

3.2.2 Población

En el cantón se encuentran, 12 de plantas, 3 centros de acopio (Véase Tabla 6). Los sectores de recolección abarcan la mayor parte del cantón cada planta o centro de acopio tiene diferentes recolectores que se distribuyen en zonas aleatorias.

Tabla 6

Plantas y Centros de Acopio del Cantón Mejía.

Parroquia	Sector de recolección	Nombre de la planta/ Centro Acopio
Aloag	Panamericana Sur	Lefridersa II
Aloag	Gregorio Cando	Lefridersa
Machachi	----------	ALPINA
Aloag	Aychapicho - Barrio Oriental	El Campesino
Machachi	Jambelí	Acopio El Chaupi
Aloasí	Barrio Simón Bolivar	El Granjerito
Machachi	San Antonio de Arteta	Acopio Panzaleo
Machachi	Tucuso	Lácteos Sebastián
Aloag	--------	El Ordeño
Tambillo	Pasochoa	Acopio Santa Inés
Tambillo	Ayahurco	Lácteos El Sabor
Tambillo	Uyumbicho	Quesera la Esperanza
Alóag	El Corazón	Lácteos Verito
Aloasi	-------	ECUALAC
El Chaupi	Pucará	Lácteos Teo

Adaptado de (GAD Municipal, 2015).

3.2.3 Cálculo de la muestra

Poniendo en consideración la fórmula para el cálculo de la muestra proporcionado por Agrocalidad (2013), tenemos:

$$n = \frac{N}{e^2(N-1)+1}$$

Dónde:

n= número de muestras.

e= porcentaje de error de la estimación de la proporción =0.05

N= tamaño de la población.

N= 15 ya que son las plantas y centros de acopio establecidos en el GAD Municipal.

Reemplazando los datos tenemos como resultado 14.49 plantas procesadoras y centros de acopio para realizar el muestreo. A este resultado se aplicaron los siguientes criterios de inclusión:

- Las muestras fueron recolectadas de las plantas o centros de acopio que recojan leche exclusivamente de lugares dentro del cantón.
- Las muestras fueron recolectadas de las plantas o centros de acopio que estén registrados en el GAD Municipal del Cantón, debido al aparecimiento de plantas procesadoras de lácteos clandestinas.
- Las muestras fueron tomadas de plantas y centros de acopio que permitieron el ingreso a sus instalaciones para la toma de muestras sin necesidad de un permiso, ya que la obtención de un permiso tomaría más tiempo del permitido.

Tomando en cuenta que para el presente estudio el término Planta hace referencia a toda planta procesadora donde su capacidad máxima de procesamiento sea de 6000 litros de leche diaria.

Criterios de exclusión:

Toda planta o centro de acopio que su capacidad de recolección y procesamiento sea mayor a 6000 litros de leche diaria.

Con estos criterios se tomó la decisión de muestrear las siguientes plantas y centros de acopio nombrados en la Tabla 7.

Las plantas recogen un mínimo de 1500 a 6000 litros de leche diaria en diferentes zonas del cantón. Siendo pequeña nuestra área de estudio se abarcó todas las plantas posibles con 5 repeticiones de muestra por cada planta y centro de acopio.

Tabla 7

Centros de Acopio y Plantas Muestreadas.

Parroquia	**Nombre de la planta/ Centro Acopio**	**Litros Recogidos Diario**
Machachi	Acopio El Chaupi	4500
Machachi	Acopio Panzaleo	1700
Machachi	Lácteos Sebastián	3700
Tambillo	Acopio Santa Inés	5500
Tambillo	Lácteos El Sabor	3400
Tambillo	Quesera la Esperanza	5400
Alóag	Lácteos Verito	4000
El Chaupi	Lácteos Teo	2000

Adaptado de (GAD Municipal, 2015).

Teniendo un total de 30.200 litros muestreados diariamente.

3.3 Materiales

- Mandil
- Guantes
- 45 Envases estériles de 100ml
- Termo de 2 litros
- Cooler
- Micro pipeta de 200ul
- Puntas para la micropipeta
- Kit Trisensor®
- Cámara Fotográfica.

3.4 Metodología

3.4.1 Toma de Muestras

La toma de muestras se inició el 14 de abril del 2018 hasta el 14 de mayo del 2018. La obtención de las muestras de leche se realizó en las cinco plantas procesadoras y los tres centros de acopio, tomando 5 muestras por planta o centro de acopio en días alternados, para así tener una aleatoriedad de las muestras.

Las muestras fueron tomadas con la leche a temperatura de 2 a 4 °C, en los horarios establecidos por cada dueño, utilizando un cucharón de acero inoxidable directamente del tanque frío. De cada tanque se obtuvo 100ml con el cucharón que fueron recolectados en un recipiente de un litro para homogenizar. Una vez homogenizada la muestra en un litro, se procede a tomar la muestra definitiva de 100ml en el frasco estéril para su análisis y posterior almacenamiento. Se procede a etiquetarla con la fecha en la cual fue tomada y el lugar de donde fue tomada.

A continuación se detalla el sitio, la fecha y la hora de la recolección de cada centro y planta.

- Acopio El Chaupi se tomó las muestras desde el día 14 de abril hasta el 18 de abril del 2018, el horario en que se recolecto las muestras en horarios de 6 a.m a 7:30 a.m.
- Acopio Panzaleo se tomaron las muestras desde el día 14 de abril hasta el día 18 de abril del 2018 de 9 a.m. a 10 a.m.
- Lácteos Sebastián se tomaron las muestras desde el día 20 de abril del 2018 hasta el día 23 de abril, los días 24 y 25 de abril no permiten el ingreso a la planta debido a que se observa un tanquero proveniente de una planta diferente, la última muestras se tomó el 26 de abril del 2018, de 5:30 a.m. a 6:30 a.m.
- Lácteos Verito se tomaron las muestras a partir del dia 21 de abril hasta el 25 de abril del 2018, de 6 a.m. a 8 a.m.
- Acopio Santa Inés se tomaron las muestras desde el día 26 de abril hasta el día 30 de abril del 2018, de 2 p.m. a 4 p.m.
- Lácteos el Sabor se tomaron las muestras del 29 de abril hasta el 03 de mayo del 2018, de 5 a.m. a 6 a.m.
- Lácteos Esperanza se tomaron las muestras del 30 de abril al 2 de mayo, descansaron el domingo 3 de mayo, las muestras se tomaron el 4 y 5 de mayo para completar las 5 muestras. El horario fue de 6 a.m. a 7 a.m.
- Lácteos Teo las muestras fueron tomadas del 09 de mayo al 12 de mayo, la planta no trabajó el domingo 13 de mayo, completando las muestras el 14 de mayo del 2018; en horario de 5:30 a.m. a 6:30 a.m.

En la Tabla 8 se muestra un resumen de los horarios establecidos por los dueños de las planta para la toma de muestras.

Tabla 8.

Horario de la toma de muestras.

Sitio	Hora
Acopio El Chaupi	De 6 a.m. a 7:30 a.m.
Acopio Panzaleo	De 9 a.m. a 10 a.m.
Lácteos Sebastián	De 5:30 a.m. a 6:30 a.m.
Lácteos Verito	De 6 a.m. a 8 a.m.
Acopio Santa Inés	De 2 p.m. a 4 p.m.
Lácteos El Sabor	De 5 a.m. a 6 am
Lácteos Esperanza	De 6 a.m. a 7 a.m.
Lácteos Teo	De 5:30 a.m. a 6:30 a.m.

Debido a que todas las plantas o centros de acopio tienen horarios diferentes de recolección, se esperó a que todos los tanques de frío estén llenos para tomar las muestras. En la Figura 2 se muestra un resumen del proceso que sigue las muestras desde la toma hasta el análisis.

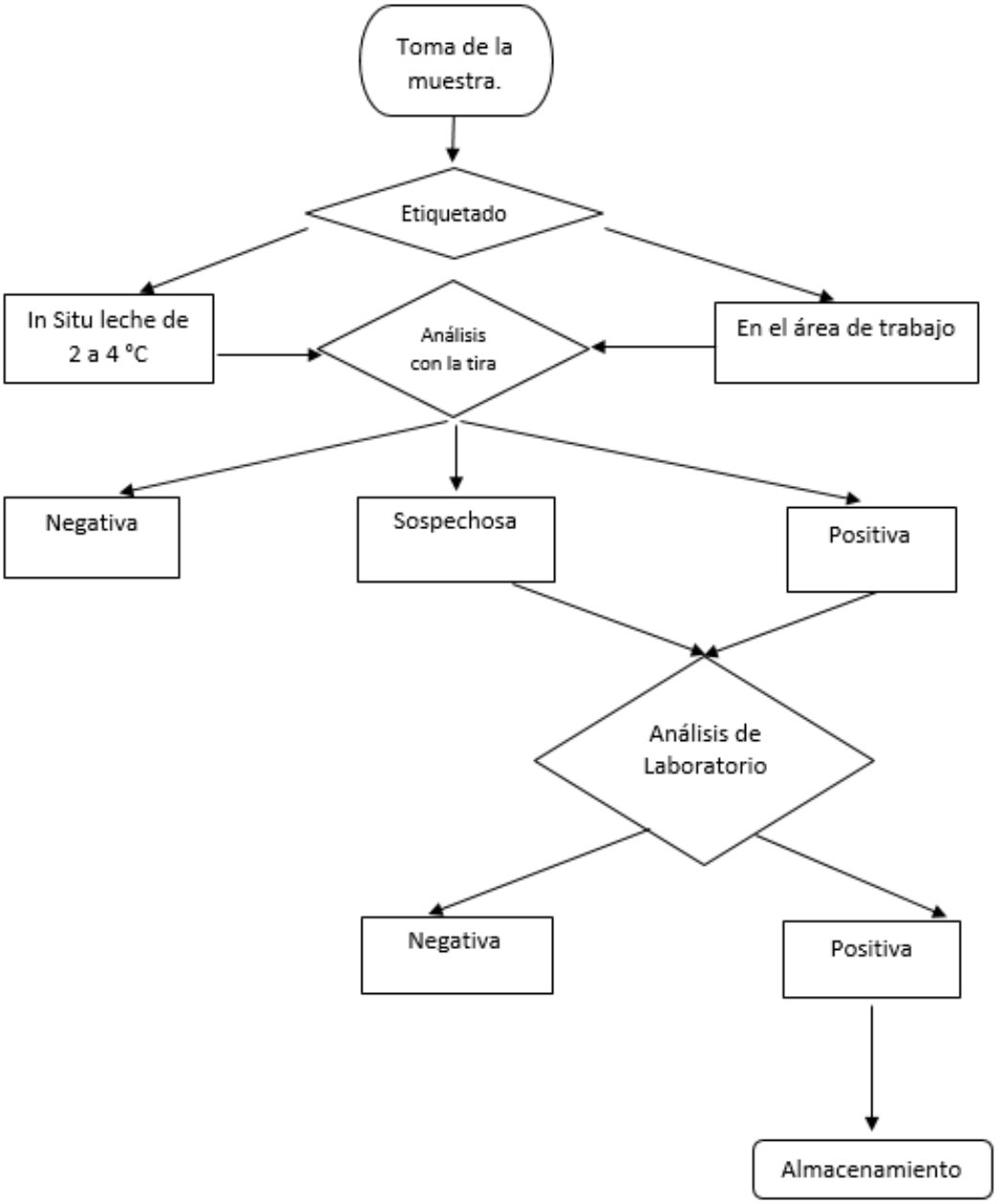

Figura 2. Diagrama de Flujo de toma de muestras y análisis.

3.4.2 Identificación de Antibióticos con tira reactiva

En este estudio se utilizó el kit Trisensor® que es un ensayo de flujo lateral donde se utiliza tres componentes un micropozo que contiene los receptores

específicos y anticuerpos, la tira donde se encuentra conjugados de oro para permitir la adhesión de los receptores y la leche para analizar (Unisensor, 2016).

El kit está recomendado para uso in situ con la leche a una temperatura de dos a 4 °C con una respuesta al test de entre 5 a 7 minutos.

Para trabajar con más rapidez la muestra debe ser tomada a temperatura de 2 a 4°C luego esta debe ser calentada en incubadora o en baño maría hasta la temperatura de 38 a 40 °C, obteniendo una respuesta al test de entre 2 a 5 minutos (Unisensor, 2016).

En el manual de AGROCALIDAD para el análisis de las muestras se debe tomar en cuenta que la leche antes de ser añadida al micropozo con los receptores y anticuerpos monoclonales de las tiras reactivas a utilizar se debe calentar la leche a 40°C (AGROCALIDAD, 2013).

El método Trisensor® nos facilita la identificación de la presencia de las tres familias de antibióticos que están siendo analizadas en este estudio con una sola tira y un solo micropozo(Unisensor, 2016). En la Figura 3 se muestra la lectura de los resultados.

En este trabajo de titulación en 2 plantas procesadoras y en 1 centro de acopio se realizaron las pruebas en el sitio con la leche a una temperatura de 2 a 4 °C.

En el caso de las otras 3 plantas procesadoras y 2 centros de acopio las pruebas se realizaron fuera de los establecimientos, siguiendo el protocolo de transporte y conservación de las muestras. Tomándose las muestras a una temperatura de 2°C manteniéndolas a esa temperatura, luego las muestras se calentaron en baño maría de 38 a 40°C para realizar el Test.

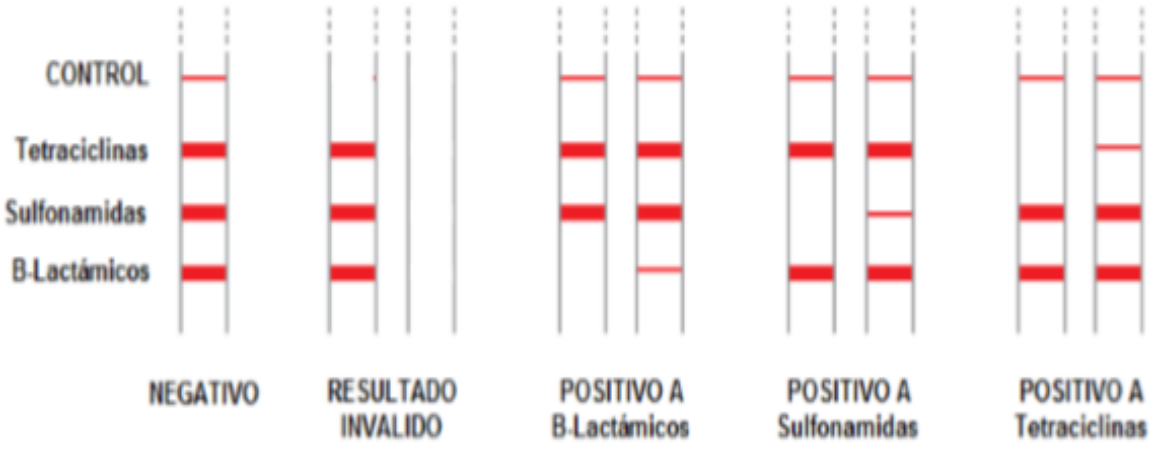

Figura 3. Interpretación de Resultados Kit Trisensor. Tomado de (Unisensor, 2016)

3.4.3 Prueba de laboratorio

Para que una muestra sea enviada al laboratorio la muestra tiene que ser positiva, sospechosa o no negativa; toda muestra que cumpla con cualquiera de estos criterios serán enviadas al laboratorio para su análisis y comprobación de los resultados.

Las muestras fueron enviadas en frascos etiquetados con la cantidad de 40 ml con la leche en refrigeración a 2°C para su análisis.

3.4.4 Variables

Tabla 9.
Variables

Variables	Tipo Variable	Definición	Indicador	Unidad de medida	Instrumentos
Centro o planta	Independiente	Centro de recolección de leche		Visual	
Presencia o ausencia de antibióticos	Dependiente / cualitativa	Antibióticos en leche analizada	Resultado Tira Reactiva y resultado laboratorio	Positivo: No presenta color (tira) Negativo: color (tira).	Medición directa
Tipo antibiótico	Dependiente / cualitativa	Tetraciclinas, Betalactámicos y Sulfas.	Resultado coloración en tira para el antibiótico y resultado de laboratorio	Positivo: No presenta color (tira) Negativo: color (tira)	Medición directa

3.5 Análisis estadístico

Mediante la elaboración de tablas de contingencia, tablas de frecuencia y con la prueba exacta de Fisher, con la ayuda del programa SPSS, se realizaron estas

pruebas con la finalidad de tener un mayor porcentaje de confiabilidad para el estudio. La prueba exacta de Fisher se utilizó para comparar entre los resultados de un lugar y otro.

Capitulo IV. Resultados

Los resultados reflejados en la presente investigación, fueron los arrojados con las tiras Trisensor® y posterior mente a los negativos con los análisis de laboratorio. Para las pruebas estadísticas se establecieron un margen de confiabilidad al 95%.

4.1 Presencia o ausencia de antibióticos mediante Trisensor®

De las 40 muestras analizadas se obtuvo un 15% de muestras positivas y un 85% de muestras negativas. Estableciendo el intervalo de confianza para las muestras positivas de: 0,056 [0,041-0,259] IC al 95% (Tabla 10).

Tabla 10.

Frecuencia de resultados de la tira Trisensor® evaluados en porcentaje.

		Frecuencia	Porcentaje válido
Válido	Negativo	34	85,0
	Positivo	6	15,0
	Total	40	100,0

4.2 Presencia o ausencia de antibióticos mediante laboratorio

En los resultados del laboratorio se observa que el 7,5% de muestras son positivas (Tabla 11). Con estos resultados establecemos para las muestras positivas: 0.042 [0.007-0.15] IC al 95%.

Tabla 11

Frecuencia de resultados de los análisis de laboratorio evaluados en porcentaje

		Frecuencia	Porcentaje válido
Válido	Negativo	37	92,5
	Positivo	3	7,5
	Total	40	100,0

4.3 Análisis de los antibióticos encontrados

Dentro de los tres antibióticos analizados en este estudio, se encontró 3 muestras positivas para betalactámicos de 40 muestras (Tabla 12).

Tabla 12.
Porcentajes de antibióticos encontrados.

Antibiótico	**Sulfamidas**	**Betalactámicos**	**Tetraciclinas**
Positivos	0%	7,50%	0%
Negativos	100%	92,50%	100%
Total	100%	100%	100%

4.4 Relación entre los resultados de la prueba Trisensor y el Lugar de muestreo

Con la prueba de Fisher, se intentó establecer una relación para el lugar y el resultado (Tabla 13),el p valor se observa en la Tabla 14. En la Tabla 15 y la Tabla 16 se aplica lo mismo para los resultados del laboratorio.

Tabla 13.
Tabla cruzada de los resultados

		Negativo	Positivo	Total
Lugar	Acopio El Chaupi	5	0	5
	Acopio Panzaleo	4	1	5
	Lácteos Sebastian	4	1	5
	Lácteos Verito	4	1	5
	Acopio Santa Inés	5	0	5
	Lácteos El Sabor	4	1	5
	Lácteos Esperanza	5	0	5
	Lácteos Teo	3	2	5
Total		34	6	40

Tabla 14.

Test de Fisher para Trisensor®

Prueba exacta de Fisher			
	Valor	Df	Significación exacta (bilateral)
Prueba exacta de Fisher	5,206		,886
N de casos válidos	40		

Tabla 15.

Tabla cruzada de los resultados

Tabla cruzada Lugar*Laboratorio				
		Laboratorio		
		Negativo	Positivo	Total
Lugar	Acopio El Chaupi	5	0	5
	Acopio Panzaleo	5	0	5
	Lácteos Sebastian	5	0	5
	Láteos Verito	4	1	5
	Acopio Santa Inés	5	0	5
	Lácteos El Sabor	4	1	5
	Lácteos Esperanza	5	0	5
	Lácteos Teo	4	1	5
Total		37	3	40

Tabla 16.
Test de Fisher para Laboratorio

Prueba Exacta de Fisher			
	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)
Prueba exacta de Fisher	5,366			1,000
N de casos válidos	40			

Las muestras analizadas en laboratorio, no tiene relación al centro de recolección (p valor > 0.05).

4.6 Test de Fisher para Betalactámicos y Lugar

En la Tabla 17 y Tabla 18 se descarta la relación que podría existir entre el tipo de antibiótico y el lugar de recolección.

Tabla 17.
Tabla cruzada Lugar Betalactámicos

		Negativo	Positivo	Total
Lugar	Acopio El Chaupi	5	0	5
	Acopio Panzaleo	5	0	5
	Lácteos Sebastian	5	0	5
	Láteos Verito	4	1	5
	Acopio Santa Inés	5	0	5
	Lácteos El Sabor	4	1	5
	Lácteos Esperanza	5	0	5
	Lácteos Teo	4	1	5
Total		37	3	40

Tabla 18.
Test de Fisher para Betalactámicos y Lugar

	Valor	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)
Prueba exacta de Fisher	5,366		1,000
N de casos válidos	40		

4.7 Discusión.

En Colombia el Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico de la Universidad de Córdoba, demostraron la presencia de antibióticos en leche de ganado bovino, con tres muestreos diferentes en el Municipio de Montería, teniendo un total de 439 muestras válidas de estas obtuvieron un 25% muestras positivas (n= 111) para trazas de antibióticos en leche cruda (Calderón, Mattár, Sierra, Sotelo, & Tordecilla, 2009), a diferencia de la presente investigación que se obtuvo el 15% muestras positivas para el análisis de la tira; debido a que la condiciones para el uso de la tira no fueron las mismas en ambos estudios, la comprobación de los resultados con pruebas de laboratorio en la presente investigación fue necesaria.

Jundishapur- Iran, en su investigación se analizaron 992 muestras de leche cruda de ganado bovino donde se encontraron 23.8% (n= 236) de muestras positivas con trazas de antibióticos, las muestras fueron analizadas con el método Beta-star, que tiene como principio la identificación de Betalactámicos por comparación visual (Mollayi, Ghanavi, & Eslami, 2013) corroborando los resultados de nuestro estudio.

En otro estudio, realizado en Perú en donde se recolectaron muestras del mercado del distrito del Callao, obtuvieron un total de 40 muestras de leche cruda de ganado bovino en las fechas de enero a marzo del 2008, las cuales fueron analizadas para Betalactámicos y Tetraciclinas, dando como resultado 40% (16)

de positivos para Betalactámicos y 0% para tetraciclinas (Benavides, y otros, 2009).

Con el mismo número de muestras en esta investigación tenemos resultados similares, donde se encontraron 7,5%(n=3) muestras de leche cruda de ganado bovino positivas para antibióticos de la familia de los betalactámicos, 0% de antibióticos para la familia de las tetraciclinas y Sulfas.

Por otro lado con un estudio de Martha Olivera y Juan Fernando Vásquez, realizaron un estudio en Colombia, con una población mucho más grande, en el periodo de 2007-2010, analizando un total de litros de 738 millones de litros de leche, dando como resultado positivo un 0.05% de muestras positivas para betalactámicos (Olivera & Vásquez, 2012); en relación con la presente investigación se puede observar que todas las muestras positivas fueron para la familia de Betalactámicos, corroborando con las otras investigaciones que consideran que la familia de antibióticos presentes en leche con un mayor porcentaje es la de los Betalactámicos.

Siendo así y aunque se respeten los tiempo de retiro, los residuos presentes en leche de ganado bovino siempre van a quedar en muchos de los casos, así como se muestra en una investigación realizada en Peru en el año 2013, donde analizaron leche que provenía de animales que anteriormente fueron tratados con antibióticos de tipo betalactámicos respetando los tiempos de retiro el porcentaje de antibiótico encontrados en las muestras tomados fue del 45% (n= 27/60) (Calle, Espínoza, Falcón, Pinto, & Salas, 2013).

Debido a esto podemos citar a Diaz y Pena, que dicen que la comercialización de leche cruda de ganado bovino con residuos de antibióticos aparte de ser ilegal es un problema para la Salud Pública. Determinando así que pequeñas cantidades de penicilina (0,03UI) en leche, pueden afectar a las personas que no toleren o sean alérgicas este antibiótico con comezón, ardor, azma o llegar hasta shock anafilácticos (Diaz & Pena, 2016).

Esto da a notar que la comercialización de leche cruda de ganado bovino con trazas de antibióticos se ha vuelto un problema de Salud Pública a nivel mundial.

Dentro los estudios encontrados no realizan pruebas estadísticas que se pueda corroborar o contrastar con el presente estudio.

Por otra parte con la investigación realizada para este estudio y el análisis de los resultados de este trabajo, y de diferentes estudios realizados dentro y fuera del país, se denota que la presencia de antibióticos no tiene predilección por lugares específicos dentro de la cadena de producción hasta el consumidor final. Esto podemos corroborar con las pruebas exactas de Fisher aplicadas para las diferentes pruebas en relación a los centros de recolección de leche cruda de ganado bovino.

Por ultimo para la validación de los datos de esta investigación se realizaron intervalos de confianza al 95%, confirmando así que los resultados encontrados están dentro del intervalo de confianza.

4.7 Limitantes.

- No se pudo conseguir los permisos del GAD Municipal del Cantón Mejía y de AGROCALIDAD, para tomar las muestras en todos los centros de acopio y plantas procesadoras registradas en el GAD Municipal del Cantón Mejía. El tiempo de gestión de los permisos en el municipio toma alrededor de 2 meses en la aprobación de la solicitud.
- Las muestras no pudieron ser tomadas todos los días a la misma hora. No se tienen datos reales de los litros de leche que ingresaron por día al momento de la toma de muestra, solamente promedios del volumen recibido al día. Estas limitantes ocurrieron porque los administradores de los centros de acopio y las plantas no proporcionaron los datos ni las facilidades para recolectar esa información. En ciertos casos, las muestras no fueron colectadas a día seguido por restricción de la planta.

- No se tiene certeza del lugar de origen de la leche porque los recolectores hacen rutas distintas en 5 de los centros evaluados. Solamente 3 sitios hacen una ruta fija en un sector específico del cantón.
- No se pudo realizar la prueba de laboratorio a todas las muestras colectadas, solamente a las no negativas a la prueba Trisensor®. Por lo tanto, no se pueden establecer relaciones entre los resultados y el lugar de origen, entre el nivel de leche procesada y el resultado positivo a las pruebas, y tampoco de manera concluyente la ausente relación entre el tipo de antibiótico encontrado y la zona de origen.

Capitulo V. Conclusiones y Recomendaciones.

5.1 Conclusiones.

- En la leche cruda bovina que se procesa en 3 de las 8 plantas y centros de acopio evaluados tiene antibióticos, por lo tanto esa leche estaría al alcance del consumidor en el Cantón Mejía; en consecuencia, se acepta la hipótesis del estudio demostrando que existe la presencia de antibióticos en leche cruda bovina de consumo humano.
- Las pruebas utilizadas demostraron la presencia de betalactámicos en la leche recogida por las plantas procesadoras de subproductos.
- Los centros de acopio no presentaron resultados positivos a las pruebas de antibióticos. Cuando la leche resulta positiva a antibióticos en el centro de acopio, es destinada a la venta a queserías pequeñas no legalizadas en el registro municipal, esa es la razón por la cual en todas las muestras no se encontraron resultados positivos, porque siempre fueron tomadas después que el dueño ha realizado su propia prueba.
- Los Betalactámicos son los antibióticos más utilizados en las ganaderías de pequeños a medianos productores, razón por la cual es el identificado en las plantas procesadoras.

5.2 Recomendaciones.

- Se recomienda para posteriores investigación pedir permisos pertinentes a las entidades encargadas en el control de la comercialización de leche cruda para realizar trabajos en conjunto sin previo aviso a los encargados de los sitios de recolección para evitar que la leche a muestrear sea previamente ya analizada.
- Para posteriores investigación la recomendación de la toma muestra se puede realizar en plantas procesadoras clandestinas sin registro en el GAD Municipal del Cantón Mejía y en lugares donde se venden leche cruda al por menor siendo que recogen leche directamente de los

tanqueros, debido a que la mayoría de leche contaminada va a parar directa e indirectamente en estos lugares.

- Para el análisis de muestras se recomienda utilizar dos pruebas de diferente casa comercial para reducir el margen de error o utilizar pruebas individuales para diferentes antibióticos para abarcar más familias de antibióticos.

- Para ampliar el estudio y hacer la evaluación sobre la relación entre el origen y el resultado positivo al tipo de antibiótico, se debe hacer el muestreo por proveedor de leche, anotando sitio, cantidad de litros recogidos, si se tiene un veterinario de cabecera y si se aplican buenas prácticas de ordeño.

REFERENCIAS

AGROCALIDAD. (7 de Noviembre de 2013). *Manual de Leche* . Obtenido de http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2016/08/Manual-de-Leche-DAJ-2013461-0201.0213.pdf

Agudelo Gomez , D., & Mejia Bedoya, O. (1 de Junio de 2005). *Composición nutricional de la leche de ganado vacuno*. Obtenido de Redalyc: http://www.redalyc.org/html/695/69520107/

Albarenque, S., Mas, L., Ferreyra, M., Marchisio, M., Gomila, A., & Armelini, P. (Junio de 2005). *SCIELO*. Obtenido de Lactancia Materna y Alimentación Complementaria: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-00752005000300011

Allara, M., Izquierdo, P., Rodríguez, B., & Torres, G. (2005). *Serviluz.* Obtenido de Servicio de Sistemas Bibliotecarios y de Informacion: http://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/14872

Avila Téllez, S., & Gutiérrez Chávez, A. (2009). *Produción de leche con Ganado Bovino.* México D.F: Manual Moderno S.A.

Benavides, E., Gamarra, G., Guerrero, D., Motta, R., Roque, M., & Salazar, M. (Diciembre de 2009). *Ciencia E Investigación.* Obtenido de Revistas de Investigación UNMSM: http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/download/3401/4497

Cabrera, L., Carbajal, Á., Cuadrado, C., & Moreiras, O. (14 de Mayo de 2013). *Sociedad Española de Nutrición.* Obtenido de http://www.sennutricion.org/es/2013/05/14/tablas-de-composicin-de-alimentos-moreiras-et-al

Calderón, A., Mattár, S., Sierra, M., Sotelo, D., & Tordecilla, G. (30 de Mayo de 2009). *SCIELO*. Obtenido de Detecciόm de Antibióticos en leches: Un Problema de Salud Pública: https://www.scielosp.org/article/rsap/2009.v11n4/579-590/

Centro Superior de Investigaciones Científicas. (26 de Mayo de 2009). *Higiene Ambiental*. Obtenido de http://www.higieneambiental.com/higiene-alimentaria/deteccion-de-antibioticos-en-la-leche

Diaz, D., & Pena, G. (15 de Enero de 2016). *EXTENSION.* Obtenido de http://articles.extension.org/pages/9858/uso-de-antibiticos-en-la-ganadera-lechera

Duran Ramirez, F. (2009). *Lácteos y derivados: obtención- conservación-procesos.* Bogota: Grupo Latino Editores.

Espadas, M. (2006). *Rumegants.* Obtenido de Anatomía y la Producción de la Leche: http://www.remugants.cat/2/upload/anatomia_braguer_i_produccia_llet.pdf

FAO. (04 de Diciembre de 1990). *FAO.* Obtenido de www.fao.org/input/download/report/207/al89_31s.pdf

Ferraro, D. (2006). *APROCAL.* Obtenido de http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/calidad_de_leche.htm.pdf

GAD Municipal, C. M. (2015). *Municipio de Mejía*. Obtenido de http://www.municipiodemejia.gob.ec/index.php/mejia/ubicacion

González, D., Landeros, P., Noa, M., Noa-Lima, E., & Reyes, W. (Abril de 2009). *SCIELO.* Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2009000100006

Gudiol, F., & Marín, M. (20 de Noviembre de 2002). *ELSEVIER*. Obtenido de http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-antibioticos-betalactamicos-S0213005X03728730

Guzmán, E. (2004). *MEDIGRAPHIC*. Obtenido de http://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2004/gms043o.pdf

INEC. (Agosto de 2016). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC 2016*. Obtenido de http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2016/Informe%20ejecutivo%20ESPAC_2016.pdf

INEN. (2015). *INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN*. Obtenido de NORMA TÉCNICA ECUATORIANA: http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/07/nte_inen_009_6r.pdf

Mollayi, S., Ghanavi, Z., & Eslami, Z. (1 de Septiembre de 2013). *Jundishapur Journal of Microbiology*. Obtenido de http://jjmicrobiol.com/en/articles/18785.html

Olivera, M., & Vásquez, J. F. (2012). *SCIELO.* Obtenido de http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v15n1/v15n1a17.pdf

OMC. (2003). *WTO.* Obtenido de https://www.wto.org/spanish/tratop_s/agric_s/agchairtxt_july08_s.pdf

OMS. (2010). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de http://origin.who.int/maternal_child_adolescent/documents/9789241597494/es/

Ramírez, A., Gutíerrez, R., Gonzáles, C., Escobar, I., Castro, G., Díaz, G., & Noa, M. (2001). *Revista de Salud Animal Vol.23.* Obtenido de http://img.realfitness.es/2015/10/Detecci%C3%B3n-de-antibi%C3%B3ticos-en-leche-comercializada-en-la-ciudad-de-M%C3%A9xico.pdf

Sotelo, D., Mattár, S., Calderón, A., Sierra, M., & Tordecilla, G. (30 de Mayo de 2009). *Revista de Salud Pública. 11.* Obtenido de Universidad de Cordoba: https://unicordoba.edu.co/images/Deteccion_de_actibioticos_en_leche2.pdf

Sumano López, H., & Ocampo Camberos, L. (2006). *Farmacología Veterinaria.* México,D.F: Mc Graw Hill.

Unisensor. (2016). *Unisensor Diagnostic Engeering*. Obtenido de https://unisensor.be/products/KIT035

ANEXOS

Anexo 1.

Centros de recolección

Foto 1

Foto 2

Foto 3

Foto 4

Anexo 2.

Toma de muestras

Foto 1

Foto 2

Anexo 3.

Análisis de muestras

Foto 1

Foto 2

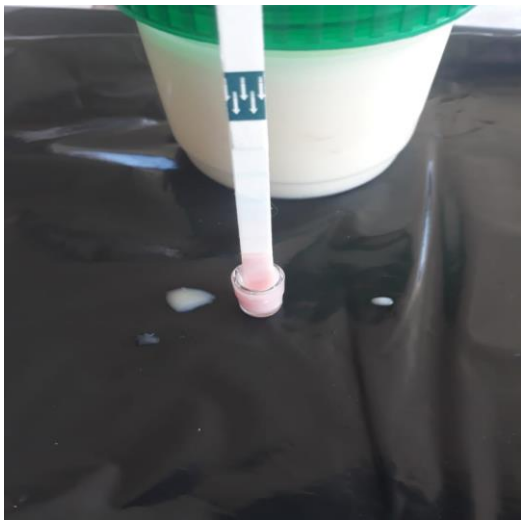

Foto 3

Anexo 4.

Resultados

Foto 1 negativo

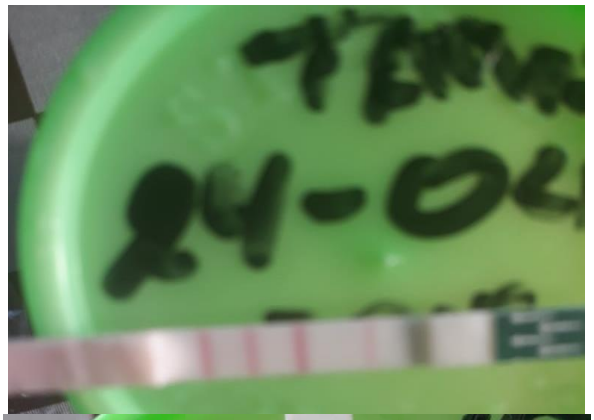

Foto 2 No Negativo

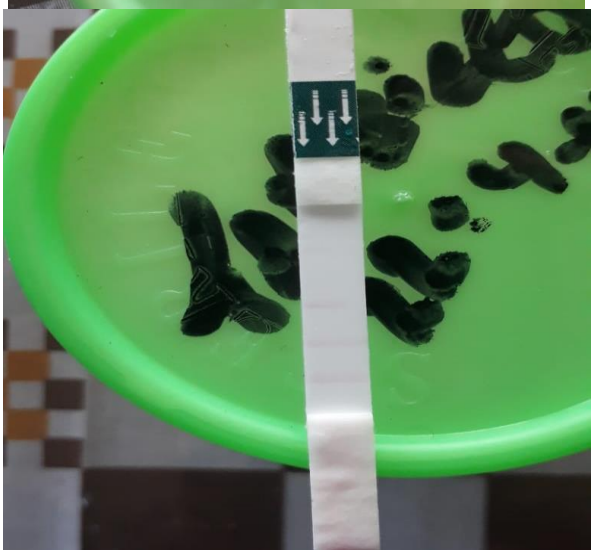

Foto 3 Positivo

Anexo 5.

Resultados de Laboratorio

Foto 1

PROPIETARIO:	Sr. David Cañizares	TELÉFONO:	0984578104
RUC:	1722111513	UBICACIÓN:	Pichincha-Mejía-Machachi
HACIENDA:	Sin Dato	MAIL:	hcañizares@udlanet.ec
SOLICITANTE:	Sr. David Cañizares	RESPONSABLE:	M.V.Z. Hernán Calderón
ESPECIE:	Bovina	TIPO DE MUESTRA:	Leche
EXAMEN SOLICITADO:	Antibiótico en leche		
Nº DE MUESTRAS	3		
PRUEBAS SOLICITADAS:	Muestra proporcionada por el cliente		

RESULTADOS ANTIBIOTICO EN LECHE

Nº	IDENTIFICACIÓN	B-LACTÁMICOS	TETRACICLINAS	SULFONAMIDAS
1	LACTEOS TEO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

β-LACTÁMICOS	TETRACICLINAS	SULFONAMIDAS
Penicilina G	Clortetraciclina	Sulfamethazine
Ampicilina	Doxitetraciclina	Sulfametoxazol
Amoxicilina	Oxitetraciclina	Sulfadiazina
Cloxacilina		Sulfathiazole
Oxacilina		Sulfadimetoxina
Dicloxacilina		Salfaquinoxalina
Nafcilina		Sulfapiridina
Ceftiofur		Sulfametossipiridazina
Cefapirina		Sulfametizola
Cefazolina		sulfamerazina
Cefoperazona		Sulfacloropiridazina
Cefquinoma		
Cefalonio		

Este resultado es válido solo para la muestra analizada

ANIMALAB CIA. LTDA.
M.V.Z. HERNAN CALDERON
DIRECTOR TECNICO "ANIMALAB CIA. LTDA"

Foto 2

PROPIETARIO:	Sr. David Cañizares	TELÉFONO:	0984578104
RUC:	1722111513	UBICACIÓN:	Pichincha-Mejía-Machachi
HACIENDA:	Sin Dato	MAIL:	hcañizares@udlanet.ec
SOLICITANTE:	Sr. David Cañizares	RESPONSABLE:	M.V.Z. Hernán Calderón
ESPECIE:	Bovina	TIPO DE MUESTRA:	Leche
EXAMEN SOLICITADO:	Antibiótico en leche		
Nº DE MUESTRAS	3		
PRUEBAS SOLICITADAS:	Muestra proporcionada por el cliente		

RESULTADOS ANTIBIÓTICO EN LECHE

Nº	IDENTIFICACIÓN	B-LACTÁMICOS	TETRACICLINAS	SULFONAMIDAS
2	LACTEOS EL SABOR	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

β-LACTÁMICOS	TETRACICLINAS	SULFONAMIDAS
Penicilina G	Clortetraciclina	Sulfamethazine
Ampicilina	Doxitetraciclina	Sulfametoxazol
Amoxicilina	Oxitetraciclina	Sulfadiazina
Cloxacilina		Sulfathiazole
Oxacilina		Sulfadimetoxina
Dicloxacilina		Salfaquinoxalina
Nafcilina		Sulfapiridina
Ceftiofur		Sulfametossipiridazina
Cefapirina		Sulfamelizola
Cefazolina		sulfamerazina
Cefoperazona		Sulfacloropiridazina
Cefquinoma		
Cefalonio		

Este resultado es válido solo para la muestra analizada

ANIMALAB CIA. LTDA.

M.V.Z. HERNAN CALDERON
DIRECTOR TECNICO "ANIMALAB CIA. LTDA"

Foto 3

PROPIETARIO:	Sr. David Cañizares	TELÉFONO:	0984578104
RUC:	1722111513	UBICACIÓN:	Pichincha-Mejía-Machachi
HACIENDA:	Sin Dato	MAIL:	hcañizares@udlanet.ec
SOLICITANTE:	Sr. David Cañizares	RESPONSABLE:	M.V.Z. Hernán Calderón
ESPECIE:	Bovina	TIPO DE MUESTRA:	Leche
EXAMEN SOLICITADO:	Antibiótico en leche		
Nº DE MUESTRAS	3		
PRUEBAS SOLICITADAS:	Muestra proporcionada por el cliente		

RESULTADOS ANTIBIÓTICO EN LECHE

Nº	IDENTIFICACIÓN	B-LACTÁMICOS	TETRACICLINAS	SULFONAMIDAS
3	LACTEOS VERITO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

β-LACTÁMICOS	TETRACICLINAS	SULFONAMIDAS
Penicilina G	Clortetraciclina	Sulfamethazine
Ampicilina	Doxitetraciclina	Sulfametoxazol
Amoxicilina	Oxitetraciclina	Sulfadiazina
Cloxacilina		Sulfathiazole
Oxacilina		Sulfadimetoxina
Dicloxacilina		Salfaquinoxalina
Nafcilina		Sulfapiridina
Ceftiofur		Sulfametossipiridazina
Cefapirina		Sulfametizola
Cefazolina		sulfamerazina
Cefoperazona		Sulfacloropiridazina
Cefquinoma		
Cefalonio		

Este resultado es válido solo para la muestra analizada

ANIMALAB CIA. LTDA.
M.V.Z. HERNAN CALDERON
DIRECTOR TECNICO "ANIMALAB CIA. LTDA"