



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

"DETECCIÓN DE RESIDUOS DE QUINOLONAS Y SULFONAMIDAS EN
CARNE DE POLLO EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO
MEDIANTE UN KIT RÁPIDO DE DIAGNÓSTICO"

AUTOR

Daysi Lucia Iza Guzmán

AÑO

2019



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DETECCIÓN DE RESIDUOS DE QUINOLONAS Y SULFONAMIDAS EN CARNE
DE POLLO EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO MEDIANTE UN KIT
RÁPIDO DE DIAGNÓSTICO”

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

Profesor guía

David Francisco Andrade Ojeda

Autora

Daysi Lucia Iza Guzmán

Año

2019

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

"Declaro haber dirigido el trabajo, Detección de residuos de quinolonas y sulfonamidas en carne de pollo en el Distrito Metropolitano de Quito mediante un kit rápido de diagnóstico, a través de reuniones periódicas con el estudiante Daysi Lucia Iza Guzmán, en el semestre 2019-10, 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".

MVZ. David Francisco Andrade Ojeda MgSc.

C.I.: 1712693165

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

"Declaro haber revisado este trabajo, Detección de residuos de quinolonas y sulfonamidas en carne de pollo en el Distrito Metropolitano de Quito mediante un kit rápido de diagnóstico, de Daysi Lucia Iza Guzmán, en el semestre 2019-10, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

MV. María Graciela Estrada Dávila MgSc.

C.I.: 1713108551

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.”

Daysi Lucia Iza Guzmán

C.I.: 1722958475

AGRADECIMIENTOS

A toda mi familia que estuvo apoyándome en cada paso de mi carrera universitaria.

A mis profesores Alexandra Angulo, Graciela Estrada y David Andrade quienes estuvieron presentes durante todo el proceso de este trabajo de titulación.

A mis dos grandes amigas María Cristina Galante y María Alejandra Orellana que me acompañaron durante toda mi vida universitaria.

A María Mulki, Tatiana Montes y Margoth Barrionuevo, quienes fueron parte fundamental para la culminación de la presente tesis.

A LIVEXLAB y AGROCALIDAD por facilitarme sus instalaciones y ayuda técnica.

DEDICATORIA

A mis padres Graciela Guzmán y Alfonso Iza por siempre creer en mí, brindarme su amor y confianza. A Edwin Castillo, a mi hermana y sobrinos que siempre estuvieron a mi lado apoyándome.

RESUMEN

La existencia de residuos de antibióticos en alimentos obtenidos de animales de producción ocurre por un control y uso inadecuado de los mismos y debido al incumplimiento del tiempo de retiro necesario. Este problema, es una de las principales causas de alteraciones en la salud de los consumidores y de la aparición de bacterias resistentes, generando preocupación a nivel mundial. La carne de aves de corral es la segunda más producida a nivel mundial y la primera en el Ecuador, por lo que es importante realizar estudios para detección de residuos de antibióticos en esta carne, especialmente en la ciudad de Quito, donde no existe información. Es por estos motivos, que el presente estudio tiene el objetivo de detectar la presencia de enrofloxacin y/o sulfametoxazol en pechuga de pollo, en el Distrito Metropolitano de Quito (DMQ) y cuantificar el número total de muestras positivas a los dos antibióticos en carne de acuerdo al tipo de antibiótico y por origen de la muestra. Para lograrlo, se tomaron un total de 84 muestras en distintas zonas (norte, sur y valles) del DMQ y en diferentes sitios de expendio (tercenas, mercados y supermercados). Las muestras fueron analizadas por medio del kit MaxSignal® basado en la técnica ELISA competitivo. Los principales resultados obtenidos demostraron que el $14/84=16.6\%$ de las muestras analizadas contenían residuos de los antibióticos analizados, sobrepasando en el $1/84=1.19\%$ de los casos los LMR propuestos por el Codex Alimentarius y la Unión Europea. Además, el $1/84=1.19\%$ de las muestras presentaban residuos multidroga. Para enrofloxacin se encontró que el $14/68=20.59\%$ de las muestras analizadas resultaron positivas, siendo solo el $1/68=1.47\%$ superior a los LMR. Para sulfametoxazol solo el $1/84=1.9\%$ resultaron positivos y por debajo de los LMR. En conclusión, se encontró la presencia de residuos de los antibióticos estudiados, por lo que se debe monitorear su uso en el DMQ.

Palabras claves: ELISA, residuos de antibióticos, LMR, sulfonamidas, quinolonas.

ABSTRACT

The presence of antibiotic residues in food obtained from production animals occurs due to inadequate control and use, in addition to a noncompliance of the necessary withdrawal time. This problem is one of the main causes of alterations in consumers' health and of the appearance of resistant bacteria, generating worldwide concern. Poultry meat is the second most produced globally and the first in Ecuador, which is why it is important to develop studies to detect antibiotic residues in this meat, especially in the city of Quito, where there is no information available because of the lack of research in this field. For these reasons, the present study aims to detect the presence of enrofloxacin and/or sulfamethoxazole in chicken breast in the Metropolitan District of Quito (DMQ), and quantify the total number of positive samples to both antibiotics in meat according to the type of antibiotic and sample origin. In order to achieve this, a total of 84 samples were taken in different areas (north, south and valleys) of the DMQ in different sale sites (butchers, markets and supermarkets). The samples were analyzed with a MaxSignal® kit based on competitive-type ELISA. The main results obtained proved that $14/84=16.6\%$ of the samples analyzed contained residues of the analyzed antibiotics, exceeding in $1/84=1.19\%$ of the cases the MRLs proposed by the Codex Alimentarius and the European Union. In addition, $1/84=1.19\%$ of the samples showed multidrug residues. In the case of enrofloxacin $14/68=20.59\%$ of the analyzed samples were found positive, being only $1/68=1.47\%$ higher than the MRL. For sulfamethoxazole only 1.9% $1/84=1.9\%$ were positive and below the MRLs. In conclusion, the presence of residues of the studied antibiotics was found in the DMQ, therefore their use should be monitored.

Keywords: ELISA, antibiotic residues, MRLs, sulfonamides, quinolones.

ÍNDICE

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
1.1. Hipótesis	4
1.2. Objetivos	4
1.2.1. Objetivo general.....	4
1.2.2. Objetivos específicos.....	4
2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Consumo de carne de pollo.....	5
2.1.1. Consumo de carne de pollo a nivel mundial	5
2.1.2. Consumo de carne de pollo en el Ecuador.....	5
2.2. Producción de carne de pollo	6
2.2.1. Tipo de producción que abastece al país	6
2.2.2. Líneas de pollos usadas en engorde	6
2.2.3. Provincias productoras de carne de pollo.....	8
2.3. Fármacos usados en la producción avícola.....	8
2.3.1. Vacunas.....	8
2.3.2. Antibióticos	9
2.3.3. Desparasitantes.....	13
2.3.4. Antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos	14
2.4. Residuos de medicamentos de uso veterinario	14
2.4.1. Residuos de desparasitantes.....	15
2.4.2. Residuos de antibióticos.....	15
2.5. Pruebas usadas para detección de antibióticos en carne	19
2.5.1. Cromatografía de capa fina y Cromatografía líquida de alta precisión	20
2.5.2. Premi test	20
2.5.3. ELISA	21
3. CAPÍTULO III: MATERIALES Y METODOLOGÍA	23

3.1. Diseño del estudio	23
3.2. Población y muestra	23
3.3. Área del estudio	25
3.4. Materiales.....	25
3.4.1. Materiales para la toma de muestra	25
3.4.2. Materiales preparación de la muestra.....	26
3.4.3. Materiales para realización de ELISA.....	26
3.5. Métodos	27
3.5.1. Toma de muestras.....	27
3.5.2. Preparación de las muestras en laboratorio	28
3.5.3. Realización del kit rápido ELISA en laboratorio	30
3.5.4. Análisis e interpretación de resultados	33
4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.1. Análisis Univariados	35
4.1.1. Sector	35
4.1.2. Administración Zonal	36
4.1.3. Parroquias	37
4.1.4. Local de expendio.....	39
4.1.5. Enrofloxacina	40
4.1.6. Sulfametoxazol	41
4.2. Análisis Bivariados	42
4.2.1. Sector	42
4.2.2. Administración zonal.....	44
4.2.3. Parroquia	46
4.2.4. Local de expendio.....	47
4.3. Discusión.....	49
5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	54
5.1. Conclusiones.....	54

5.2. Recomendaciones.....	55
REFERENCIAS.....	56
ANEXOS	65

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Parroquias y número de muestras tomadas en cuenta para el estudio..	38
<i>Figura 2.</i> Tipos de locales de expendio, número de muestras y su porcentaje.	40
<i>Figura 3.</i> Número y porcentaje de muestras positivas para enrofloxacin.	41
<i>Figura 4.</i> Número y porcentajes de positivos y negativos para sulfametoxazol. ...	42
<i>Figura 5.</i> Resultados del análisis de residuos de enrofloxacin por sector.	43
<i>Figura 6.</i> Resultados del análisis de sulfametoxazol en sectores	44
<i>Figura 7.</i> Número y porcentaje de muestras de enrofloxacin por tipo de local	48
<i>Figura 8.</i> Resultados de enrofloxacin por tipo de local de expendio.	49

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1.</i> LMR de desparasitantes en carne de pollo según la Unión Europea.....	15
<i>Tabla 2.</i> LMR de las familias de antibióticos en músculo de aves de corral.....	17
<i>Tabla 3.</i> Distribución de las muestras por administración zonal en el DMQ.....	24
<i>Tabla 4.</i> Variables dependientes e independientes tomadas en cuenta.	34
<i>Tabla 5.</i> Número de muestras utilizada por antibiótico.....	35
<i>Tabla 6.</i> Distribución de las muestras por sector del DMQ.	36
<i>Tabla 7.</i> Distribución de las muestras por administraciones zonales.	36
<i>Tabla 8.</i> Porcentaje de muestras tomadas por parroquia del DMQ.....	38
<i>Tabla 9.</i> Resultados de los residuos de enrofloxacin por administración zonal. .	45
<i>Tabla 10.</i> Resultados obtenidos del análisis de enrofloxacin por parroquia.....	46

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

La producción avícola es considerada una de las más exitosas a nivel mundial, siendo la segunda carne más producida. En el Ecuador la carne de pollo se posiciona como la carne de mayor consumo incluso por sobre la carne de cerdo, esta industria ha tenido un crecimiento acelerado en el país, esto pudiendo notarse en el consumo per cápita, el cual se ha triplicado en las dos últimas décadas, pasando de 10 kg a 32 kg (CONAVE, 2013; Errecart, Sosa, y Sosa, 2013; Muaz, Riaz, Akhtar, Park, y Ismail, 2018).

Muaz y otros (2018) mencionan que la avicultura ha aplicado por décadas antibióticos usados también en medicina humana para tratamiento de infecciones, pero siendo estos mayormente usados como profilácticos y promotores de crecimiento, lo cual ha generado grandes beneficios como mayor crecimiento de los animales en menor tiempo, disminución de la mortalidad, galpones más sanos y homogéneos.

A pesar de los beneficios mencionados, estudios han demostrado la existencia de residuos de antibióticos en carne de ave como ciprofloxacina, norfloxacina, sulfametoxazol, sulfadiazina, oxitetraciclina, tetraciclina, florfenicol, entre otros, los cuales superaron los límites máximos de residuos (LMR), generando grandes repercusiones a la salud como son la hipersensibilidad, alergias, alteraciones gastrointestinales y sobre todo en la aparición de bacterias resistentes (BR) que representan un gran riesgo (Acevedo, Montero, y Jaimes, 2015; Azañero y Chiroque, 2010; Lozano y Arias, 2008; Millet y Maertens, 2011; Nhung et al., 2018; Ramatla, Ngoma, Adetunji, y Mwanza, 2017).

Al surgir bacterias resistentes que atentan en contra de la salud pública, varias entidades se han preocupado por conocer la causa de estas, siendo así que la Organización Panamericana de la Salud (OPS) señala al uso no controlado de antibióticos en alimentos de origen animal como una de las principales causas de la resistencia bacteriana. Tomándose varias medidas para mitigar las consecuencias del uso indiscriminado de antibióticos, siendo una de estas la tomada por la Unión Europea, donde se prohíbe el uso de antibióticos como promotores de crecimiento (Muaz et al., 2018; OPS, 2008).

En el país existen pocos estudios realizados para determinar la existencia de antibióticos en diferentes carnes (bovino y pollo), siendo la de bovino mucho más desarrollada y donde se ha detectado residuos de diferentes antibióticos, es así que en el estudio realizado por Noroña (2017) se encontraron residuos de varios antibióticos como penicilina, oxitetraciclina, gentamicina, sulfonamidas, tilosina y estreptomycinina en músculo y vísceras de bovinos.

En el caso de aves de corral, en la ciudad de Cuenca, Pacheco (2017) confirmó la presencia de antibióticos en la carne de consumo, pero no el tipo de familia. Otro estudio realizado en aves por Vera y Cuesta (2013) en Portoviejo analizó la existencia de enrofloxacin y florfenicol en el mercado número uno del cantón, donde se encontró solamente la presencia de enrofloxacin y en concentraciones permitidas.

Los dos estudios mencionados anteriormente no brindan datos claros sobre la situación actual del uso de antibióticos en carne de pollo, por lo que se desconoce el nivel de afectación sobre la salud de la población ecuatoriana y mucho menos sobre la población quiteña donde no se han desarrollado estudios al respecto, lo

cual resulta ser una desventaja, ya que esta ciudad es la segunda más poblada y de gran importancia al ser la capital del país (Crespo, 2011).

El conocer si existen residuos de enrofloxacin y sulfametoxazol en carne de consumo humano es sumamente importante, ya que estos dos antibióticos son de uso común en avicultura, pero también en medicina humana, donde son muy útiles en el tratamiento de varias enfermedades de tracto urinario, gastrointestinal y respiratorio (LABORATORIO CHILE, 2015; LABORATORIOS LISAN, 2019). El motivo de escoger estos dos antibióticos por sobre otros también usados en la producción de pollos broiler fue la información recopilada de avicultores del país y tomando en cuenta que estos antimicrobianos fueron ya identificados por medio de varios estudios en otros países, incluyéndose entre estos a Perú y Colombia, los cuales son países vecinos y cercanos a la realidad del Ecuador.

Los consumidores al ingerir sub-dosis (residuos en carne) de antibióticos pueden sufrir varias repercusiones en su salud como las mencionadas anteriormente y sobre todo pudiéndose generar la aparición de bacterias resistentes. Esto siendo comprobado mediante varios estudios como el realizado por Fall-Niang y otros (2019) donde se encontraron varias cepas de Salmonella resistentes a fluoroquinolonas y sulfametoxazol, dando a notar la necesidad de cuidar la inocuidad de los alimentos.

El objetivo del estudio fue detectar la presencia de residuos de antibióticos de uso común como la enrofloxacin y/o sulfametoxazol en pechuga de pollo en el Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), mediante el uso de un kit rápido de diagnóstico (ELISA de tipo competitivo). Obteniéndose como resultado que si existen residuos de estos antibióticos en la carne de pollo que se distribuye en el DMQ, en qué

concentraciones y según su origen en que lugares hay una mayor probabilidad de encontrar estos residuos.

1.1. Hipótesis

Existen residuos de las familias quinolonas y/o sulfonamidas en la carne de pollo distribuida en tres tipos de lugares de expendio (terceras, mercados y supermercados) en el Distrito Metropolitano de Quito.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Identificar la presencia de quinolonas y/o sulfonamidas en la carne de pollo que se expende en el Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), mediante el uso de una prueba rápida de diagnóstico.

1.2.2. Objetivos específicos

1. Detectar la presencia de enrofloxacin y/o sulfametoxazol en carne de pollo.
2. Cuantificar el número de muestras positivas a antibióticos en carne de pollo total, por tipo de antibiótico y por origen de la muestra.

2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Consumo de carne de pollo

2.1.1. Consumo de carne de pollo a nivel mundial

Errecart y otros (2013) mencionan que el mercado mundial de la carne ha tenido grandes modificaciones, las causas para estas variaciones pueden ser los cambios alimenticios de la población, el crecimiento o disminución de la producción mundial, además de la creciente población humana. La industria avícola a nivel mundial ha incrementado su producción abruptamente, ya que su producción en 1993 era de 32,74 millones de toneladas y en el año 2013 casi triplicó su producción, superando por mucho a la producción de carne bovino en tan solo una década (Anexo 1). La industria avícola ha crecido rápidamente debido al bajo costo de producción, los avances tecnológicos, el cuidado y sanidad en los predios, los espacios reducidos de crianza en comparación con otras especies y los precios de venta bajos (MGAP, 2015).

2.1.2. Consumo de carne de pollo en el Ecuador

A nivel nacional la producción y consumo de carne de ave ha tenido un cambio impresionante, incrementándose considerablemente hasta convertirse en la proteína de origen animal más consumida en el país. Su gran cambio se puede notar ya que hace solo dos décadas el consumo de carne de pollo era de tan solo 10 kg por persona por año y en la actualidad esta cifra casi se ha cuadruplicado, siendo el consumo per cápita actual de 32-35 kg por año (CONAVE, 2013).

Según datos de CONAVE (2013), el Ecuador en la actualidad es capaz de abastecer en un cien por ciento la demanda interna de carne de pollo. La producción nacional de pollos de engorde fue de 230 millones en ese año.

2.2. Producción de carne de pollo

La avicultura en el Ecuador se encuentra en expansión, siendo que el mayor crecimiento de esta industria se ha dado en las últimas dos décadas, siendo el volumen de producción anual de pollos de engorde de 230 a 250 millones (AVINEWS, 2017).

2.2.1. Tipo de producción que abastece al país

AVINEWS (2017) menciona que el tipo de producción que abastece al país es equitativo entre empresas grandes, medianas y pequeñas. Además, se calcula que existen alrededor de 1900 granjas avícolas en el Ecuador (El Telégrafo, 2017).

2.2.2. Líneas de pollos usadas en engorde

Los pollos de carne o pollos broiler son el resultado del cruce de varias razas o estirpes de aves pesadas con características específicas, siendo los cruces realizados dependiendo de las necesidades de los avicultores y el mercado al que abastecen, pero siempre buscándose en los cruces, características como: velocidad de crecimiento, buena conversión alimenticia, buena conformación, buen rendimiento a la canal, baja incidencia de enfermedades. Las razas más utilizadas

en la industria avícola son la White Cornish, White Plymouth Rock, New Hampshire y Rhode Island (Arias y Lomas, 2013; Chang, Verdezoto, y Estrada, 2009).

La producción de pollos de carne o broiler está basada en líneas, siendo estas completamente comerciales y provenientes de empresas reconocidas, las cuales cuentan con líneas ya establecidas. Según Valdiviezo (2012) las líneas más comunes de pollos de carne son la Cobb 500, Ross 308, Hybro, Arbor Acres y la Hubbard Classic.

2.2.2.1. Cobb 500: Es la línea de pollos parrilleros considerada como la de mayor eficiencia y de preferencia por los avicultores, debido a que son aves con la conversión alimenticia más baja, alta adaptabilidad, excelente tasa de crecimiento, uniformidad, buen rendimiento a la canal y bajos costos de producción (Jarama, 2016; López, 2016; Valdiviezo, 2012; Vargas, 2009).

2.2.2.2. Ross 308: El Ross 308 es un ave precoz, con un buen rendimiento a la canal, su alimentación es fácil y es un animal con alta rusticidad, lo cual le hace resistente a enfermedades como Ascitis o Muerte súbita y se adapta a diferentes climas (Jarama, 2016; Valdiviezo, 2012; Vargas, 2009).

2.2.2.3. Hybro: La línea genética Hybro se adapta fácilmente a diferentes climas, siendo estas las aves más rústicas y con un buen desempeño, además de la gran capacidad de conversión alimenticia de las hembras que supera a la de otras líneas (Valdiviezo, 2012).

2.2.2.4. Arbor Acres: Son aves especializadas de carne, con buena conversión alimenticia, sus pectorales no son demasiado prominentes como otras

líneas pero tienen un buen rendimiento a la canal y su carcasa tiene un buen aspecto (Valdiviezo, 2012).

2.2.2.5. Hubbard Classic: Son animales muy rústicos que se adaptan a varios climas, son animales también utilizados como reproductores, sobre todo el macho, son animales con buena conversión alimenticia y buen rendimiento a la canal (Valdiviezo, 2012).

2.2.3. Provincias productoras de carne de pollo

Aillón (2012) menciona que todas las regiones del Ecuador se dedican a la producción de carne de pollo, pero la mayoría de forma casera. En el caso de producción como tal de pollos broiler las provincias productoras más importantes del país se encuentran en Costa (Guayas, El Oro y Manabí) y Sierra (Pichincha e Imbabura).

Según datos obtenidos de SIMCE (2011), la mayor producción de carne de pollo se da en las regiones de Costa y Sierra del país, siendo las provincias más destacadas: Pichincha, Guayas, Manabí, Imbabura, Azuay, Los Ríos y Cotopaxi (Anexo 2).

2.3. Fármacos usados en la producción avícola

2.3.1. Vacunas

La inmunización es considerada la mejor forma de profilaxis. Los pollos broiler al ser animales de producción con periodos de vida cortos, su calendario de inmunización

es reducido pero estricto debido a la cantidad de animales que se produce (AGROCALIDAD, 2016; Bertran et al., 2018; Zhunaula, 2016).

Según el Manual de Aplicabilidad de Buenas Prácticas Avícolas, las vacunas admitidas en el país son (AGROCALIDAD, 2016): Newcastle, Bronquitis infecciosa, Gumboro, Marek, Reovirus, Anemia infecciosa, Encefalomiелitis aviar, Salmonelosis, Micoplasma, Síndrome de la cabeza hinchada, Coccidiosis, Viruela aviar.

2.3.2. Antibióticos

Los antibióticos son fármacos muy usados en la avicultura y demás producciones animales, existen varios tipos y cumplen con la función de terapéuticos, profilácticos y durante varios años sobre todo como promotores de crecimiento, siendo este último prohibido en varios países, debido a la preocupación por la aparición de bacterias resistentes. Existen gran variedad de familias de antibióticos usados en la producción avícola a parte de los que serán tomados en cuenta en el presente estudio, por lo que a continuación se describirán las familias de uso más frecuente (Cuong, Padungtod, Thwaites, y Carrique-Mas, 2018).

Los betalactámicos son antibióticos que cuentan en su estructura con un anillo betalactámico, tienen acción bactericida. Los antibióticos de este grupo más usados son la penicilina G, útil en el tratamiento de enteritis necrótica causada por *Clostridium spp*; la amoxicilina y la ampicilina son usadas en enfermedades causadas por bacterias Gramnegativas como la saculitis aérea y en casos de pasteurelisis y colibacilosis (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2016; Gómez, García-Vázquez, y Hernández-Torres, 2015; Landoni y

Albarellos, 2015; Ledesma et al., 2018; Seija y Vignoli, 2008; Suárez y Gudiol, 2009).

De la familia de los polipéptidos, el único usado en la producción avícola es la bacitracina, el cual se usa vía oral, este no se absorbe en el sistema gastrointestinal, por lo cual, su acción es local y no tiene un tiempo de retiro. Este antibiótico es usado para prevenir, controlar y tratar la enteritis necrótica (Landoni y Albarellos, 2015).

Los aminoglucósidos y Aminociclitores son fármacos bactericidas con un espectro antibacteriano que incluye bacterias aerobias Gramnegativas (como *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonas*) y estafilococos. Los aminoglucósidos usados en aves de corral son la neomicina, gentamicina y estreptomina. Los dos aminociclitores usados en aves de corral son el higromicina y espectinomicina, el primero siendo usado por su efecto antihelmíntico, el segundo usado en infecciones causadas por *E. coli* (Landoni y Albarellos, 2015).

Las tetraciclinas son bacteriostáticos, considerados como los más usados en la producción animal, debido a su amplio espectro de acción y su amplio margen de seguridad. Son activos contra bacterias, protozoos, microorganismos anaerobios e intracelulares como *Mycoplasma* y *Chlamydia spp.* Se usan especialmente en el tratamiento de estafilococos, *E. coli*, *Pasteurella multocida* y *Haemophilus paragallinarum*. Los antimicrobianos de este grupo más utilizados en la producción avícola son la clortetraciclina, la tetraciclina y la oxitetraciclina (Landoni y Albarellos, 2015).

Los macrólidos usados en la producción avícola son la tilosina, eritromicina y la tilmicosina, los cuales son bacteriostáticos, pero pueden actuar como bactericidas lentamente, su potencia aumenta en medios alcalinos, pero son débiles en medios ácidos, de este modo siendo poco efectivos en abscesos y tejido necrótico (Landoni y Albarellos, 2015).

La única lincosamida usada en aves es la lincomicina, la cual tiene una efectiva actividad contra muchas bacterias Grampositivas y anaeróbicas. Su uso principal es el tratamiento de infecciones entéricas, como la enteritis necrótica inducida por *Clostridium perfringens* y la espiroquetosis intestinal (Landoni y Albarellos, 2015).

La tiamulina, es una pleuromutilina, la cual es muy efectiva para el tratamiento de infecciones causadas por *Mycoplasma* y espiroquetosis intestinal aviar. Se debe tener muy en cuenta la interacción de esta con anticoccidiales ionóforos (Landoni y Albarellos, 2015).

De la familia de los fenicoles, el más usado es el florfenicol, un derivado del cloranfenicol. Es un antimicrobiano de amplio espectro que tiene un efecto bacteriostático y actúa sobre microorganismos intracelulares, bacterias Gramnegativas sensibles como *E. coli* y *Salmonella spp*; anaerobios como *Chlamydia spp.*, *Mycoplasma spp.* (Landoni y Albarellos, 2015).

Los ionóforos son usados generalmente en avicultura en contra de coccidios, pero también tienen acción efectiva contra bacterias Grampositivas como *Clostridium perfringens*. A este grupo de antimicrobianos y coccidicidas pertenecen la salinomicina, monensina, narasina, maduramicina, semduramicina y lasalocid (AGROCALIDAD, 2016; Landoni y Albarellos, 2015).

2.3.2.1. Sulfonamidas

Son antibióticos muy antiguos, pero que continúan siendo útiles para el control y tratamiento de infecciones por coccidios, especialmente en las formas intestinales más que en las cecales. Son inhibidores de la síntesis de ácido fólico, son fármacos bacteriostáticos, pero cuando se combinan o potencian son bactericidas que actúan contra *E. coli* y *Pasteurella multocida* (Landoni y Albarellos, 2015).

Se usan comúnmente en el agua de bebida de las aves. El uso de estos antimicrobianos es limitado, ya que pueden llegar a ser tóxicos y tienen una interacción metabólica con los ionóforos. Las más usadas en avicultura son: sulfaclopiridazina, sulfadimetoxina, sulfametazina, sulfaquinoxalina, sulfatiazol y sulfametoxazol (Landoni y Albarellos, 2015).

El sulfametoxazol se usa normalmente en combinación con trimetoprim para potenciar su acción y pasar de bacteriostático a bactericida, se administra vía oral por medio del agua suministrada a las aves. Este antimicrobiano tiene acción contra bacterias Gram negativas y positivas, su tiempo de retiro es de al menos 7 días (Apolo, 2015; Plumb, 2008).

2.3.2.2. Quinolonas

Este grupo de antibióticos contiene agentes antimicrobianos muy eficaces y usados en la producción avícola. Son bactericidas e inhiben la replicación y transcripción del ADN bacteriano. Estos fármacos son eficaces contra una gran variedad de patógenos importantes de las aves de corral, como *E. coli*, *Pasteurella spp.* y *Mycoplasma*. Las quinolonas antiguas como el ácido nalidíxico o el ácido oxolínico,

no deben ser usados, ya que estos fácilmente causan resistencia bacteriana, la cual puede afectar la acción de las fluoroquinolonas actuales (Landoni y Albarellos, 2015).

La enrofloxacin es la quinolona más usada en la industria avícola, tiene un amplio margen de seguridad, una absorción oral completa, rápida y una larga vida media de eliminación. Se administra de forma continua en agua. Su tiempo sugerido de retiro va de entre 3 a 7 días. A pesar de ser muy útil, se ha prohibido su uso en varios países como Estados Unidos, Australia, Finlandia y Dinamarca, debido al creciente peligro de la resistencia bacteriana (Landoni y Albarellos, 2015).

2.3.3. Desparasitantes

Las infecciones más comunes en avicultura son las causadas por helmintos y protozoos. Existen gran variedad de fármacos utilizados para la desparasitación de aves de corral, siendo estos usados dependiendo del calendario sanitario instaurado por el médico veterinario de planta (AGROCALIDAD, 2016; Mestorino et al., 2017).

Mestorino y otros. (2017) mencionan que uno de los productos utilizados en avicultura es la ivermectina, el cual abarca parásitos internos y externos, siendo usado en piensos y agua de bebida. Albendazol, fenbendazol, ivermectina son los medicamentos de uso común en el país en caso de gusanos intestinales. En enfermedad causada por coccidia, se utilizan ionóforos como la salinomicina, monensina, narasina; y otros anticoccidiales como el diclazuril y clopidol. Para combatir parásitos externos se usa ivermectina y cipermetrinas (AGROCALIDAD, 2016).

2.3.4. Antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos

Estos fármacos se usan en caso de fiebre, inflamación o dolor en músculos o tejidos, los medicamentos más usados son: ácido acetilsalicílico, acetaminofén, diclofenaco y paracetamol (AGROCALIDAD, 2016).

2.4. Residuos de medicamentos de uso veterinario

Lozano y Arias (2008) afirman que el uso de gran variedad de medicamentos en la crianza de las especies de producción es indispensable e inevitable, ya que durante la cría de los animales se presentan varias complicaciones en su salud. Estos fármacos son usados como terapéuticos, preventivos e incluso como promotores de crecimiento.

Los residuos de medicamentos en productos de origen animal aparecen cuando se usan fármacos de manera descontrolada y no se respeta el tiempo de retiro para cada medicamento usado. Estos residuos tienen gran importancia, ya que no solo afecta a la calidad y comercialización de los productos obtenidos, sino que afectan directamente a la salud del consumidor (Cóppola, 2014; Lozano y Arias, 2008).

La mayoría de los residuos de medicamentos (principio activo o sus metabolitos) provienen de desparasitantes, anabólicos y antibióticos, los cuales pueden causar varias enfermedades o alteraciones en el organismo del consumidor, ya que algunos productos son teratogénicos, mutagénicos, carcinogénicos, causan alergias e hipersensibilidades, aparición de bacterias resistentes, entre otros (Cóppola, 2014).

2.4.1. Residuos de desparasitantes

Estos fármacos al igual que muchos otros deben ser controlados, se debe respetar el tiempo de retiro, ya que se ha demostrado que en caso de consumirse alimentos con residuos de estos pueden generar resistencia de parásitos y alergias o hipersensibilidad en los consumidores, como es el caso de la ivermectina (Mestorino et al., 2017). A continuación, por medio de la tabla 1, se presentan los límites máximos de residuos (LMR) según la Unión Europea (UE) para desparasitantes en músculo de aves de corral.

Tabla 1

LMR de desparasitantes en carne de pollo según la Unión Europea.

Desparasitante	LMR en músculo
Doramectina	40 µg/kg
Ivermectina	100 µg/kg (hígado y grasa)
Flubendazol	50 µg/kg
Foxima	25 µg/kg
Levamisol	10 µg/kg
Toltrazurilo	100 µg/kg

Nota: Adaptado del reglamento de la UE (Comisión de la Unión Europea, 2010).

2.4.2. Residuos de antibióticos

El uso de fármacos, entre estos sobre todo antibióticos en la producción de animales de abasto y sobre todo en la avicultura es de gran importancia, ya que estos han tenido un papel indispensable en el desarrollo y prosperidad de esta industria, siendo usados por varias décadas. Estos fármacos son usados en el tratamiento,

prevención y en muchos países todavía como promotores de crecimiento (ya que ayudan a generar parvadas uniformes, ganancia de peso rápida, entre otros) (Muaz et al., 2018; Patel et al., 2018).

Estos fármacos han generado grandes beneficios, pero en muchos casos se ha observado su uso indiscriminado, lo que ha ocasionado varios problemas a nivel de salud pública como son alergias, hipersensibilidad, alteraciones gastrointestinales y sobre todo bacterias resistentes (al usarse los mismos fármacos que en medicina humana), por lo que se ha prohibido su uso en varios países como la Unión Europea (Cóppola, 2014; Errecart et al., 2013; Muaz et al., 2018; OPS, 2008; Patel et al., 2018).

Talero-Pérez, Medina, y Rozo-Núñez (2014) mencionan que se ha encontrado residuos de diversos antibióticos en productos provenientes de granjas animales, es así como estos residuos se han encontrado en muestras de pelo, piel, orina, hígado, músculo, riñones, huevos, leche, demostrando que no se está realizando un control adecuado del tiempo de retiro de estos medicamentos.

En carne de pollo se ha encontrado la presencia de residuos de antibióticos pertenecientes a varias de las familias mencionadas anteriormente, las cuales son de uso común en la industria avícola, de este modo notándose el control inadecuado de residuos. En varias investigaciones se encontraron residuos de quinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, aminoglucósidos, fenicoles, lincosamidas y macrólidos (Acevedo et al., 2015; Azañero y Chiroque, 2010; Imran et al., 2018). A continuación, se presenta en la tabla 2, los LMR según el reglamento establecido por la Unión Europea para residuos de antibióticos en músculo de aves de corral.

Tabla 2

LMR según la Unión Europea para distintas familias de antibióticos en músculo de aves de corral.

Familia	Antibiótico	LMR en músculo
Betalactámicos	Ampicilina	50 µg/kg
	Amoxicilina	50 µg/kg
	Bencilpenicilina	50 µg/kg
	Cloxacilina	100 µg/kg
	Dicloxacilina	300 µg/kg
	Doxiciclina	100 µg/kg
	Fenoximetilpenicilina	25 µg/kg
	Oxacilina	300 µg/kg
Ortosomicinas	Avilamicina	50 µg/kg
Tetraciclínas	Clortetraciclina	300 µg/kg
	Oxitetraciclina	100 µg/kg
	Tetraciclina	100 µg/kg
Polimixinas	Colistina	150 µg/kg
Quinolonas	Ácido oxolínico	100 µg/kg
	Danofloxacino	200 µg/kg
	Difloxacino	300 µg/kg
	Enrofloxacino	100 µg/kg
	Ciprofloxacino	100 µg/kg
	Flumequina	400 µg/kg
Macrólidos	Eritromicina	200 µg/kg
	Espiramicina	200 µg/kg
	Tilmicosina	75 µg/kg
	Tilosina	100 µg/kg
Aminoglucósidos	Espectinomicina	300 µg/kg

	Kanamicina	100 µg/kg
	Neomicina	500 µg/kg
	Paromomicina	500 µg/kg
Fenicoles	Florfenicol	100 µg/kg
	Tianfenicol	50 µg/kg
Ionóforos	Lasalócido	20 µg/kg
Lincosamidas	Lincomicina	100 µg/kg
Sulfonamidas	Todas las sulfonamidas	100 µg/kg
Pleuromutilina	Tiamulina	100 µg/kg
Diaminopirimidinas	Trimetoprima	50 µg/kg

Nota: Adaptado del reglamento de la UE (Comisión de la Unión Europea, 2010).

2.4.2.1. Residuos de Quinolonas en carne

Las fluoroquinolonas o quinolonas son muy usadas en avicultura, sobre todo la enrofloxacin, un antibiótico de amplio espectro incluso contra *Pseudomonas spp.* Se ha observado que la enrofloxacin cuenta con un periodo de eliminación mucho más largo en aves de corral que en otras especies, incluso su metabolito la ciprofloxacina ha sido encontrada en músculo hasta varios días después de terminado el tratamiento. A este medicamento se le ha atribuido el aumento de resistencia a antibióticos en casos de infecciones por *Campylobacter spp.* Debido a los problemas presentados la FDA prohibió el uso de enrofloxacin en Estados Unidos en el año 2005 (Patel et al., 2018).

2.4.2.2. Residuos de Sulfonamidas en carne

Las sulfas como el sulfametoxazol son antibióticos bacteriostáticos que actúan sobre coccidias, uno de los protozoos más comunes en la avicultura, estos medicamentos están aprobados para su uso en animales de consumo, pero pueden ocasionar grandes repercusiones a la salud al existir residuos de antibióticos en la carne de consumo como son: efectos en el sistema nervioso central, trastornos gastrointestinales, reacciones de hipersensibilidad como rash cutáneo (Acevedo et al., 2015; Lozano y Arias, 2008; Patel et al., 2018).

Además, en medicina humana el sulfametoxazol se usa comúnmente en combinación con trimetoprim para tratamiento de *Yersinia pestis*. Sin embargo, varios estudios han encontrado residuos de este fármaco en piel y músculo de aves por sobre los límites máximos de residuos permitidos, es decir, más de 100 µl/kg (Acevedo et al., 2015; Baroni, 2004; Gan y Patel, 2013).

2.5. Pruebas usadas para detección de antibióticos en carne

Existen varios métodos usados para detectar la presencia de residuos de diferentes antibióticos en alimentos provenientes de animales de abasto, a estos métodos se los puede dividir en métodos de detección y de confirmación. Al primer grupo pertenecen varias pruebas como la cromatografía de capa fina (TLC), el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), el Premi Test, entre otros (Ramatla et al., 2017).

En el caso de los métodos de confirmación, estos son menos rentables que los anteriores, en este grupo tenemos la cromatografía líquida de alta precisión (HPLC),

la cual es utilizada en combinación con otros métodos para confirmar la presencia de residuos de antibióticos (Ramatla et al., 2017).

2.5.1. Cromatografía de capa fina y Cromatografía líquida de alta precisión

Existen varias técnicas cromatográficas basadas en separación de componentes y las cuales cuentan con una fase estacionaria y una fase móvil, como es el caso de la cromatografía de capa fina (TLC) y la cromatografía líquida de alta precisión (HPLC), estas dos técnicas pertenecen a la cromatografía líquida (la fase móvil es líquida). Este tipo de técnicas además de la separación de los componentes de una muestra permiten su identificación y cuantificación (Talero-Pérez et al., 2014).

Además, la cromatografía líquida de alta precisión (HPLC) es considerada una de las herramientas más útiles en el laboratorio analítico. A diferencia de otras técnicas de cromatografía, la HPLC cuenta con una alta sensibilidad, es adaptable y aplicable a varias sustancias de interés (Azañero y Chiroque, 2010).

2.5.2. Premi test

Pacheco (2017) señala que existe gran variedad de métodos propuestos para la detección varios fármacos como los residuos de antibióticos en carne de aves de corral, pero siendo el Premi test el más rápido y fácil de realizar. Esta técnica tiene como fundamento la inhibición del *Bacillus stearothermophilus*, el cual es muy sensible a la mayoría de los antibióticos. Las esporas de dicho microorganismo se encuentran en un agar rico en nutrientes, en caso de no existir antibióticos, estas esporas germinan (cambio de color en el agar) y si hay la presencia de antibióticos, las esporas no germinan (no hay cambio de color).

2.5.3. ELISA

Según Gan y Patel (2013) la técnica ELISA (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) se basa en el concepto inmunológico de la unión de un antígeno a su anticuerpo específico, el cual permite la detección de cantidades muy pequeñas de antígenos, como proteínas, péptidos, hormonas o anticuerpos en una muestra líquida, normalmente cuenta con 96 pocillos, lo que permite medir varias muestras en un solo estudio.

En el ELISA básico el antígeno es agregado a los diferentes pocillos, en donde se adhiere a las paredes. El anticuerpo primario se une específicamente al antígeno. Se agrega un anticuerpo secundario unido a una enzima que reacciona con un cromógeno, de esta manera produciéndose un cambio de color para detectar cuantitativa o cualitativamente el antígeno (Gan y Patel, 2013; Horlock, 2010).

Existen varios tipos de ELISA, los cuales son variaciones del básico, siendo estos: ELISA directo, indirecto, competitivo, sándwich y múltiple o portátil. En el presente estudio se trabajó con un ELISA de tipo competitivo el cual se basa en la reacción competitiva que ocurre entre el antígeno proveniente de la muestra y el antígeno que se encuentra unido a cada pocillo de una placa de microtitulación con el anticuerpo primario (Gan y Patel, 2013).

Una de las ventajas más relevantes del ELISA de competencia es su alta sensibilidad a las diferentes composiciones que hay en las mezclas de antígenos complejos, incluso cuando el anticuerpo de detección específico está presente en cantidades relativamente pequeñas (Gan y Patel, 2013).

Esta técnica es muy útil para determinar la presencia de antibióticos en carne ya que tiene buenos resultados, es rápida y mucho más rentable que otras pruebas (BIOO Scientific Corp., 2013; Horlock, 2010).

2.5.3.1. Kit Diagnóstico

Los dos kits de diagnóstico utilizados (MaxSignal® Enrofloxacin ELISA Test Kit y MaxSignal® Sulfamethoxazole ELISA Test Kit) para el presente estudio se basan en la técnica ELISA de tipo competitivo colorimétrico, provenientes de la empresa BIOO Scientific. Estos kits son de gran ayuda, ya que sus costo, materiales y tiempo de realización son más factibles en comparación con otras técnicas como la cromatografía líquida de alta precisión, de esta forma permitiendo realizar pruebas de rutina en busca de residuos en varias muestras, ya que las placas cuentan con 96 pocillos (de estos 12 utilizados para estándares y controles, dejando disponibles 84 pocillos). Otra ventaja de los kits es que tiene una alta sensibilidad, logrando detectar residuos desde 0.35 y 0.5 ppb para enrofloxacina y sulfametoxazol respectivamente (BIOO Scientific Corp., 2013, 2015).

3. CAPÍTULO III: MATERIALES Y METODOLOGÍA

3.1. Diseño del estudio

La presente investigación es de carácter observacional, descriptivo y de corte transversal. Este estudio cuenta con un total de 84 muestras de pechuga de pollo, tomadas equitativamente en todas las administraciones zonales del Distrito Metropolitano de Quito, en tres tipos de lugares de expendio, siendo estos, tercenas, mercados y supermercados.

De cada administración zonal se tomaron 3 parroquias, que fueron elegidas según la densidad poblacional de cada una. La presente tesis se dividió en cuatro fases, siendo la primera la toma de muestras, la segunda, la preparación de la muestra, la tercera, aplicar la prueba ELISA para los antibióticos enrofloxacin y sulfametoxazol en laboratorio y la última, la tabulación de los datos obtenidos y el análisis de los resultados.

3.2. Población y muestra

La población tomada en cuenta en el presente estudio es la existente en el Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), tomándose en cuenta sus administraciones zonales (tabla 3) y de estas sus parroquias con mayor densidad poblacional. En cada una de las parroquias se tomaron muestras de diferentes sitios de expendio, siendo estos tercenas, mercados y supermercados.

El número de muestras de pechuga que se analizaron fueron 84, utilizando el kit ELISA que tiene capacidad para 96, y los 12 restantes se utilizaron para estándares y controles.

La toma de muestra se basó en los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión:

- Carne de pechuga de pollo, sin grasa, hueso y piel.
- Carne proveniente de las parroquias y locales seleccionados.

Criterios de exclusión:

- Carne proveniente de cualquier parte del pollo que no sea pechuga.
- Carne proveniente de parroquias y locales no seleccionados.

Tabla 3

Distribución de las muestras por administración zonal en el Distrito Metropolitano de Quito.

Zona	No. Muestras	Administración zonal	Tercenas	Mercados públicos	Supermercados
Norte	31	Calderón	6	2	3
		Eugenio Espejo	4	3	3
		Manuela Sáenz	4	3	3
Sur	32	La Delicia	5	3	3
		Eloy Alfaro	5	3	3
		Quitumbe	4	3	3
Valles	21	Tumbaco	4	3	3
		Los Chillos	5	3	3
Total	84		37	23	24

3.3. Área del estudio

El Distrito Metropolitano de Quito (DMQ) cuenta con una superficie de alrededor de 4.183 Km², su altitud es de 2.850 metros sobre el nivel del mar. El DMQ se encuentra ubicado en el Centro Norte de la Provincia de Pichincha, Ecuador. Cuenta con 2'239.191 habitantes. Está conformado por 9 administraciones zonales. Los límites del DMQ son: Norte: Provincia de Imbabura, al Sur: cantones Rumiñahui y Mejía, al Este: cantones Pedro Moncayo, Cayambe y Provincia del Napo y al Oeste: cantones Pedro Vicente Maldonado, Los Bancos y Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas (Prefectura de Pichincha, 2017).

3.4. Materiales

Los materiales se dividieron en tres grupos según la fase que se realizó, siendo estos: materiales para la toma, para la preparación de las muestras y realización de la técnica ELISA.

3.4.1. Materiales para la toma de muestra

- Cooler
- Fundas herméticas
- Marcador permanente
- Geles refrigerantes
- Guantes de manejo
- Cuchillo
- Esfero
- Cuaderno

3.4.2. Materiales preparación de la muestra

- Buffer de extracción de carne I y II MaxSignal® Enrofloxacin ELISA Test Kit
- Buffer de extracción 1X MaxSignal® Enrofloxacin ELISA Test Kit
- Buffer de extracción 1X MaxSignal® Sulfamethoxazole ELISA Test Kit
- Mezclador de tejidos
- Mezclador vórtex
- Pipetas de 10, 20, 100, 1000 μ l
- Vasos de precipitación 50 ml
- Tubos Falcon 15 ml
- Tubos Eppendorf
- Centrifugadora para tubos Falcon 15 ml
- Nitrógeno
- Agitador para placas
- NaCl
- Esfero
- Guantes de manejo
- Cuaderno
- Pipetas de 5 ml
- Puntas para micropipetas de 100 o 200 μ l
- Acetonitrilo
- N-hexano
- Acetato de etilo
- Metanol al 100%
- Agua destilada
- Marcador permanente

3.4.3. Materiales para realización de ELISA

- MaxSignal® Enrofloxacin ELISA Test Kit
- MaxSignal® Sulfamethoxazole ELISA Test Kit
- Lector de placas de microtitulación (450 nm)
- Tubos Eppendorf 2 ml
- Micropipetas de 10, 20, 100, 1000 μ l
- Pipetas multicanal: 50-300 μ l (opcional)
- Vasos de precipitación 50 ml

- Agua destilada
- Probetas graduadas de 250-500 ml
- Guantes de manejo
- Esfero
- Cuaderno
- Toallas de papel
- Canaletas para dispensar reactivos para Elisa
- Pipetas de 5 ml
- Puntas para micropipetas de 100 o 200 μ l
- Puntas para micropipeta de 10, 20, 1000 μ l
- Metanol al 100%

3.5. Métodos

Para conseguir los objetivos planteados se dividió el estudio en cuatro fases, siendo estas la toma de la muestra, preparación de las muestras en laboratorio, realización del kit rápido ELISA en laboratorio y el análisis de los resultados obtenidos.

3.5.1. Toma de muestras

La toma de muestras se realizó en las distintas parroquias escogidas de las administraciones zonales del Distrito Metropolitano de Quito, esta recolección de muestras se realizó a finales del mes de octubre de 2018, durante dos semanas, en base a los horarios de atención de los locales. El protocolo que se siguió fue el perteneciente a AGROCALIDAD (2015) "Toma, conservación y envío de muestra de carne para el laboratorio de contaminantes de productos pecuarios". Los pasos realizados durante esta etapa se describen a continuación:

1. Para la toma de muestra se aseguró que todos los materiales que estén en contacto con la muestra se encuentren limpios para evitar contaminación.
2. Se adquirieron las muestras de cada uno de los lugares designados.

3. Se tomó la muestra excluyendo todo lo que no sea músculo pectoral, es decir, piel grasa, huesos, entre otros. Se cortó un pedazo de pechuga que abarcó tanto músculo pectoral mayor como menor. El tamaño del pedazo obtenido fue de 4 gr.
4. Después de extraída la muestra de pechuga, esta se colocó en fundas herméticas y sellándolas completamente.
5. La funda de cada muestra fue etiquetada utilizando un código que se estableció en base a la zona de proveniencia, el tipo de lugar de expendio, e incluso se colocó el nombre del local (Anexo 3 y 4).
6. Se transportaron las muestras utilizando un cooler con varios geles refrigerantes para mantener la cadena de frío hasta procesarlas.
7. Para evitar el deterioro de las muestras, fueron colocadas a temperatura de congelación (-20° C) hasta completar el muestreo.

3.5.2. Preparación de las muestras en laboratorio

La preparación de muestra se realizó en laboratorio, siguiendo los protocolos designados por parte de la empresa fabricante de los kits. Cada kit de antibiótico tenía una preparación distinta y se trabajó por separado. La preparación de la muestra y realización del kit ELISA para enrofloxacina se llevaron a cabo en las instalaciones de LIVEXLAB y la preparación de la muestra y realización del kit ELISA para sulfametoxazol se realizó en las instalaciones de AGROCALIDAD. A continuación, se detalla el proceso realizado para cada kit.

3.5.2.1. Preparación de la muestra para kit ELISA enrofloxacin

La preparación de la carne de pollo siguió el protocolo de BIOO Scientific Corp. (2013) para la extracción de la muestra necesaria para aplicar el kit ELISA (Anexo 5).

1. Se descongelaron las muestras, dejándolas en refrigeración doce horas antes de la extracción.
2. Se homogeneizó la muestra, moliendo la carne dentro de la misma funda hermética.
3. Se extrajo un gramo de la muestra homogeneizada y se agregaron cuatro ml del buffer de extracción 35% Methanol/Sample y 50 µl del buffer I para extracción de carne.
4. Se procedió a agitar la mezcla en el vórtex durante diez minutos a velocidad máxima.
5. Después se centrifugó durante diez minutos a 4.000rpm por gramo de muestra a temperatura ambiente.
6. Se transfiere 0.5 ml del sobrenadante a un nuevo tubo, en el cual se agregaron 25 µl del buffer de extracción de carne II y 1.5 ml del buffer de extracción 35% Methanol/Sample, se volvió a mezclar en vórtex por 30 segundos.
7. Para el ensayo ELISA se ocuparon 50 µl del sobrenadante.

3.5.2.2. Preparación de la muestra para kit ELISA sulfametoxazol

Para la extracción de la muestra necesaria para el kit sulfametoxazol, se requirió el permiso de la Secretaría Técnica Antidrogas (SETED) para la utilización de reactivos controlados como son acetato de etilo y N-hexano (Anexo 6).

La extracción de la muestra de la carne de pollo siguió el protocolo de la empresa fabricante BIOO Scientific Corp. (2015) (Anexo 7).

1. Se homogeneizó la muestra, moliéndola en la misma funda hermética en la que se almacenó.
2. En un tubo Falcon de 15 ml se agregó 9 ml de la Solución de Agua-ACN a 3 gramos de muestra homogeneizada, se agitó por diez minutos, y se procedió a centrifugar a 4000 rpm durante diez minutos más.
3. Se transfirieron a un nuevo tubo 4 ml del sobrenadante, se agregaron 2 ml de 2 M NaCl y 8 ml de acetato de etilo, se agitó durante cinco minutos y centrifugó a 3000 rpm durante cinco minutos.
4. Se procedió a transferir 4 ml de sobrenadante a un nuevo tubo y fue secado con nitrógeno (Anexo 8).
5. Después se agregó 1 ml del buffer de extracción de muestra 1X, se agitó por un minuto, se agregó 1 ml de N-hexano, se mezcló por dos minutos y se centrifugó a una velocidad de 4000 rpm a temperatura ambiente por cinco minutos.
6. Por último, se retiró la capa superior y se utilizó 50 μ l de la capa inferior para el ensayo.

3.5.3. Realización del kit rápido ELISA en laboratorio

Al día siguiente de la preparación de la muestra para cada antibiótico, se procedió a aplicar la técnica ELISA, siguiendo el inserto de cada kit.

3.5.3.1. Realización del kit ELISA enrofloxacin

Siguiendo las indicaciones de BIOO Scientific Corp. (2013) para la técnica ELISA enrofloxacin se realizaron los siguientes pasos:

1. El kit fue dejado a temperatura ambiente por lo menos dos horas antes de aplicar la técnica ELISA.
2. Se agregaron 50 μ l de cada estándar por duplicado en diferentes pocillos en orden, es decir, de concentración baja a concentración alta.
3. Luego se agregaron 50 μ l de cada muestra en los pocillos disponibles, colocando las muestras en orden.
4. Se agregó 100 μ l del anticuerpo I y se mezcló suavemente la placa manualmente por un minuto.
5. Se incubó la placa del ELISA por 30 minutos a una temperatura de entre 20 – 25 °C, evitándose que la luz llegue a la placa.
6. Se descartó la solución de los pocillos y se realizaron tres lavados a la placa con una cantidad de 250 μ l de 1X Wash Solution en cada lavado. Al terminar el último lavado, se invirtió la placa y se golpeó suavemente y se realizó el siguiente paso inmediatamente para evitar que se seque la placa al aire libre.
7. Se agregaron 150 μ l del anticuerpo dos 1X, a cada pocillo. Se incubó la placa por 30 minutos a temperatura ambiente cuidando que no llegue la luz directa y la temperatura fría de la mesa de trabajo.
8. Se descartó la solución de los pocillos y se lavó la placa tres veces con la cantidad de 250 μ l de 1X Wash Solution. Al terminar el último lavado, se invirtió la placa y se golpeó suavemente y se realizó el siguiente paso inmediatamente para evitar que se seque la placa al aire libre.
9. Se agregaron 100 μ l del sustrato TMB, siendo la reacción inmediata después de haber sido agregado. Se mezcló la solución de la placa suavemente de forma manual por un momento y rápidamente se ingresó la placa a una incubadora evitando la luz directa.
10. Después de haber incubado por 15 minutos a temperatura ambiente, se agregó 100 μ l de la solución Stop Buffer para detener la reacción de la enzima.

11. La placa fue leída después de agregar Stop Buffer por medio de un lector con una longitud de onda de 450 nm (Anexo 9).

3.5.3.2. Realización del kit ELISA sulfametoxazol

Siguiendo las indicaciones de BIOO Scientific Corp. (2015) para la técnica ELISA sulfametoxazol se realizaron los siguientes pasos:

1. Al día siguiente de terminada la preparación de la muestra se procedió a aplicar la técnica ELISA para sulfametoxazol, para lo cual se dejó el kit a temperatura ambiente por lo menos dos horas antes de realizar el ensayo.
2. Se agregaron 50 µl de cada estándar de sulfametoxazol por duplicado en diferentes pocillos, colocándose los estándares a la placa en el orden de concentración, es decir, de baja a alta. Se agregaron 50 µl de muestra en los pocillos disponibles.
3. Se agregaron 50 µl del conjugado SMX-HRP a cada uno de los pocillos.
4. Luego se añadieron 50 µl de Anticuerpo SMX a cada pocillo, mezclando por pipeteo. Después de agregar el anticuerpo a todos los pocillos, se mezcla suavemente de forma manual por un minuto.
5. Se incubó por una hora a temperatura de entre 20 – 25°C.
6. Se descartó la solución de los pocillos y lavó tres veces la placa con la cantidad de 250 µl de 1X Wash Solution. Después del último lavado, se invirtió la placa y se golpea suavemente. Se realiza rápidamente el siguiente paso para evitar que la placa se seque al aire libre.
7. Se agregaron 100 µl del sustrato TMB, siendo la reacción inmediata después de ser agregado. Se mezcló la placa suavemente de forma manual por un momento y se colocó en una incubadora para evitar la luz.
8. Después de incubar por 15 minutos a temperatura de 20 – 25°C, se agregó 100 µl de la solución de parada (Stop Buffer) para detener la reacción de la enzima.

9. Después de agregar Stop Buffer a la placa, se leyó la placa mediante un lector de longitud de onda de 450 nm.

3.5.4. Análisis e interpretación de resultados

La información obtenida de la toma de las muestras como los resultados obtenidos (Anexos 10 y 11) fueron almacenados mediante el programa Microsoft Excel, el cual también se usó para crear la matriz (Anexo 12) necesaria para el programa estadístico SPSS y realizar estadística descriptiva y analítica.

Después de aplicar el ensayo ELISA, los valores obtenidos por medio del lector ELISA (Anexo 13 y 14) fueron ingresados en una hoja de Excel especial "BiOO MaxSignal® ELISA Analysis Program", mediante la cual se puede conocer si la muestra es positiva, negativa y el valor de estos en ppb (Anexo 15 y 16).

El programa SPSS fue usado para efectuar análisis univariados (frecuencias) y bivariados como son las tablas personalizadas y cruzadas. Además, mediante este programa se realizaron pruebas de asociación entre variables (tabla 4) como lo es el Chi cuadrado de Pearson.

Tabla 4

Variables dependientes e independientes tomadas en cuenta en el estudio.

Variables	Característica	Tipo Variable
Sulfonamida: Sulfametoxazol	Dependiente	Cualitativa nominal/dicotómica
Quinolona: Enrofloxacin	Dependiente	Cualitativa nominal/dicotómica
Lugar de toma de muestra: Sector, administración zonal, parroquia, sitio de expendio	Independiente	Cualitativa nominal/ dicotómica

4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras para el presente trabajo de investigación se recolectaron en las parroquias con mayor densidad poblacional de tres sectores del Distrito Metropolitano de Quito (Norte, Sur y Valles), en tres tipos de locales de expendio, siendo estos tercenas, mercados y supermercados. El número total de muestras fue de 84. Los resultados corresponden al análisis de la información mencionada.

Es necesario indicar que en el caso de enrofloxacin se perdieron varias muestras como se puede observar en la tabla 5, ya que el buffer de extracción de la muestra 10X, no fue suficiente para el total.

Tabla 5

Número de muestras utilizada por antibiótico para el presente estudio.

Antibióticos	Muestras usadas		Muestras perdidas	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Enrofloxacin	68	81.0%	16	19.0%
Sulfametoxazol	84	100.0%	0	0.0%

4.1. Análisis Univariados

4.1.1. Sector

Las muestras fueron divididas en tres sectores del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), tomándose en cuenta la densidad poblacional y el número de

administraciones zonales con los que estos sectores cuentan. La tabla 6 muestra la distribución de las muestras por sector y el porcentaje que representan para el total de la muestra.

Tabla 6

Distribución de las muestras por sector del Distrito Metropolitano de Quito.

Sector	N	%
Norte	31	36.9
Sur	32	38.1
Valles	21	25.0
Total	84	100.0

4.1.2. Administración Zonal

De los sectores seleccionados se trabajó con cada una de sus administraciones zonales, excepto la administración zonal turística de la Mariscal, distribuyendo las muestras equitativamente (tabla 7).

Tabla 7

Distribución de las muestras en las diferentes administraciones zonales del DMQ.

A. Zonal	N	%
Calderón	11	13.1
Eugenio Espejo	10	11.9
Manuela Sáenz	10	11.9
La Delicia	11	13.1

Eloy Alfaro	11	13.1
Quitumbe	10	11.9
Tumbaco	10	11.9
Los Chillos	11	13.1
Total	84	100.0

4.1.3. Parroquias

Para la recolección de muestras se tomaron en cuenta tres parroquias de cada administración zonal, la distribución de las muestras se basó en la población existente en cada parroquia (figura 1). En Calderón, Condado, Solanda y Conocoto se tomaron mayor cantidad de muestras, ya que su población es mayor que la de las demás parroquias. En la tabla 8 se observa el porcentaje de muestras por parroquia.

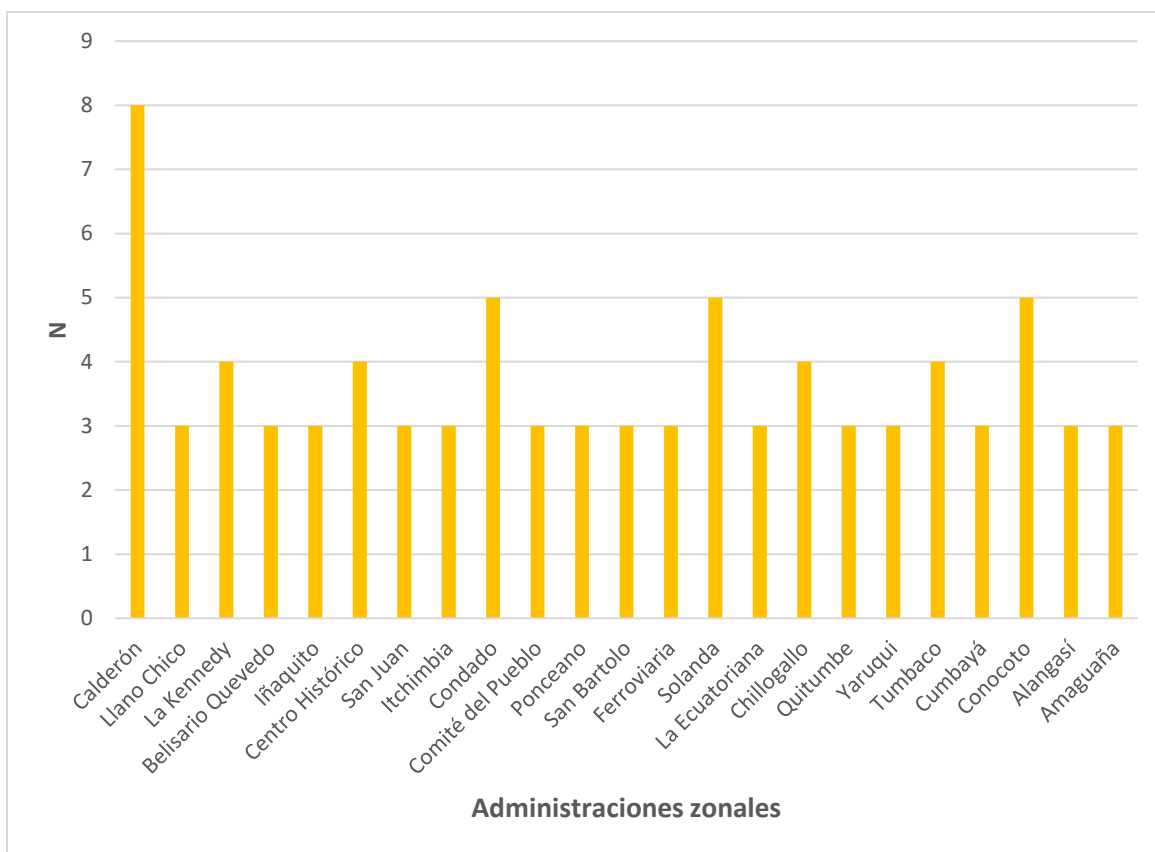


Figura 1. Parroquias del DMQ tomadas en cuenta para el presente estudio y el número de muestras tomadas por cada una.

Tabla 8

Porcentaje de muestras tomadas por parroquia del DMQ.

Parroquia	N	%
Calderón	8	9.5
Llano Chico	3	3.6
La Kennedy	4	4.8
Belisario Quevedo	3	3.6
Ñañaquito	3	3.6
Centro Histórico	4	4.8

San Juan	3	3.6
Itchimbia	3	3.6
Condado	5	6.0
Comité del Pueblo	3	3.6
Ponceano	3	3.6
San Bartolo	3	3.6
Ferroviana	3	3.6
Solanda	5	6.0
La Ecuatoriana	3	3.6
Chillogallo	4	4.8
Quitumbe	3	3.6
Yaruquí	3	3.6
Tumbaco	4	4.8
Cumbayá	3	3.6
Conocoto	5	6.0
Alangasí	3	3.6
Amaguaña	3	3.6
Total	84	100.0

4.1.4. Local de expendio

Los locales de expendio tomados en cuenta para la recolección de muestras fueron: tercenas, mercados y supermercados. No se logró tomar las muestras de cada tipo de local de expendio en cada parroquia, ya algunas de estas no contaban con estos, por lo que se procedió a reemplazar esa muestra con otra perteneciente a los locales más abundantes del lugar. En la figura 2 se puede observar el número de muestras obtenidas por local y su respectivo porcentaje.

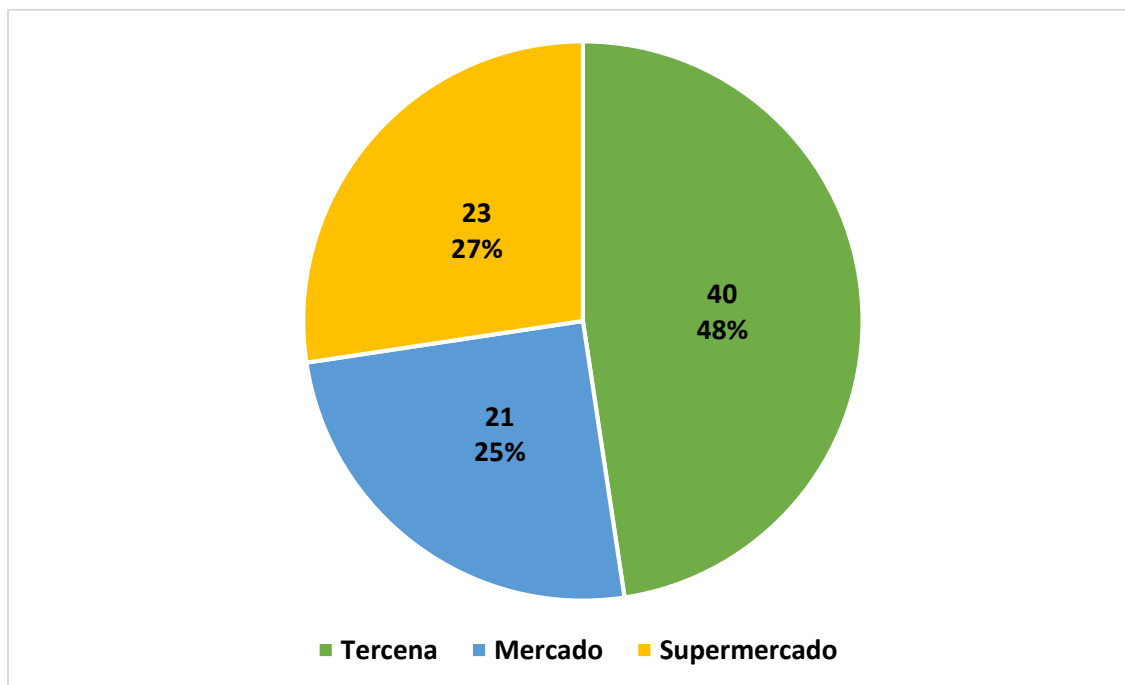


Figura 2. Tipos de locales de expendio del DMQ, número de muestras tomadas y su porcentaje.

4.1.5. Enrofloxacin

Para el antibiótico enrofloxacin se analizaron un total de 68 muestras, así como se muestra en la figura 3, en donde se destaca el porcentaje y número de muestras positivas por sobre los LMR, positivas por debajo de los LMR y muestras negativas.

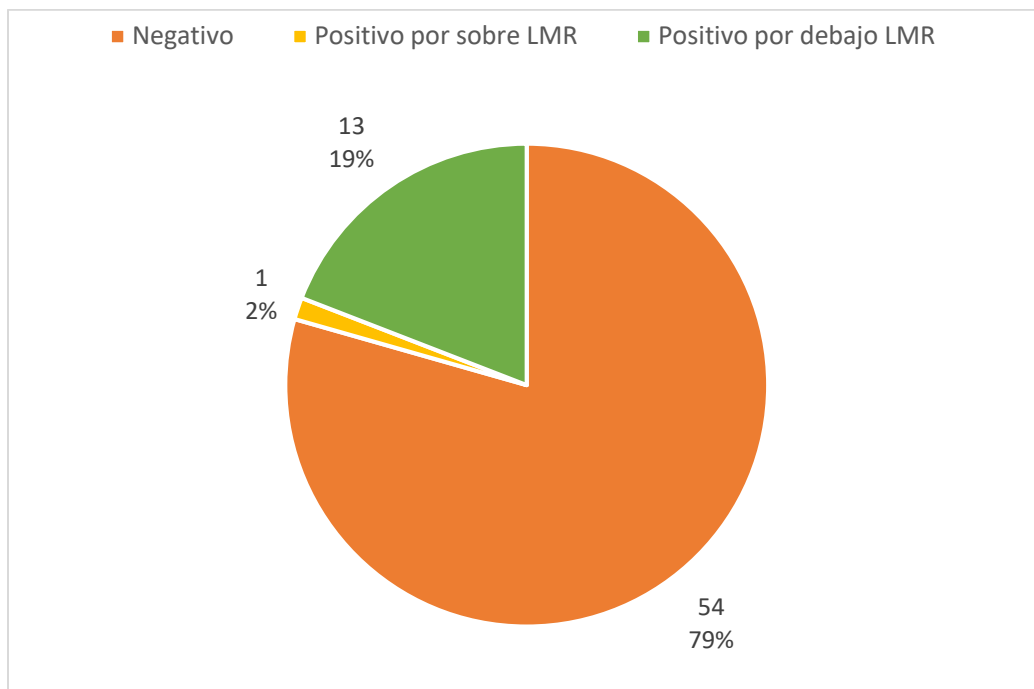


Figura 3. Número y porcentaje de muestras positivas por sobre los LMR, positivas por debajo de los LMR y muestras negativas para enrofloxacina.

4.1.6. Sulfametoxazol

Para el antibiótico sulfametoxazol se analizaron en total 84 muestras. En la figura 4, se puede observar que el porcentaje y número de muestras positivas por debajo de los LMR correspondió al 1%. En este caso no hubo positivos por sobre los LMR.

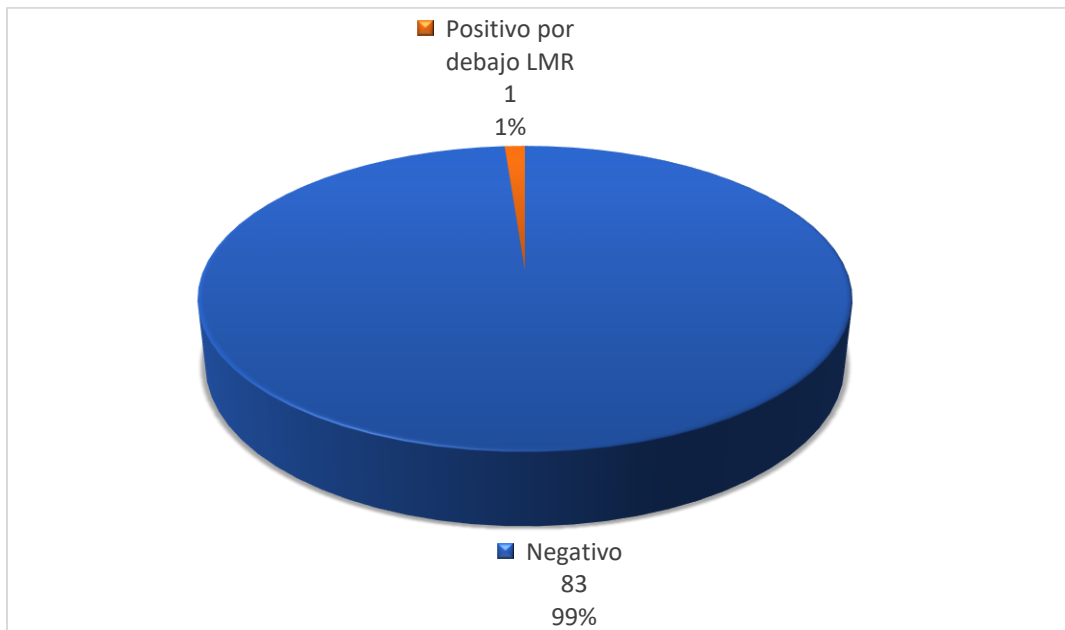


Figura 4. Número de muestras y porcentaje de positivos y negativos para sulfametoxazol.

4.2. Análisis Bivariados

4.2.1. Sector

Al analizar las muestras recolectadas en busca de residuos de enrofloxacin, se observó que el sector con mayor número y porcentaje de muestras positivas fue el Norte con 50% ($n=7/14$), incluyendo 6 por debajo y una por sobre los LMR establecidos por el Codex Alimentarius y la Unión Europea, siendo este valor de $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ en músculo. El sector Sur presentó un 28.57% ($n=4/14$) de muestras positivas por debajo de los LMR y en el Sector Valles este porcentaje fue del 21.43% ($n=3/14$) (figura 5).

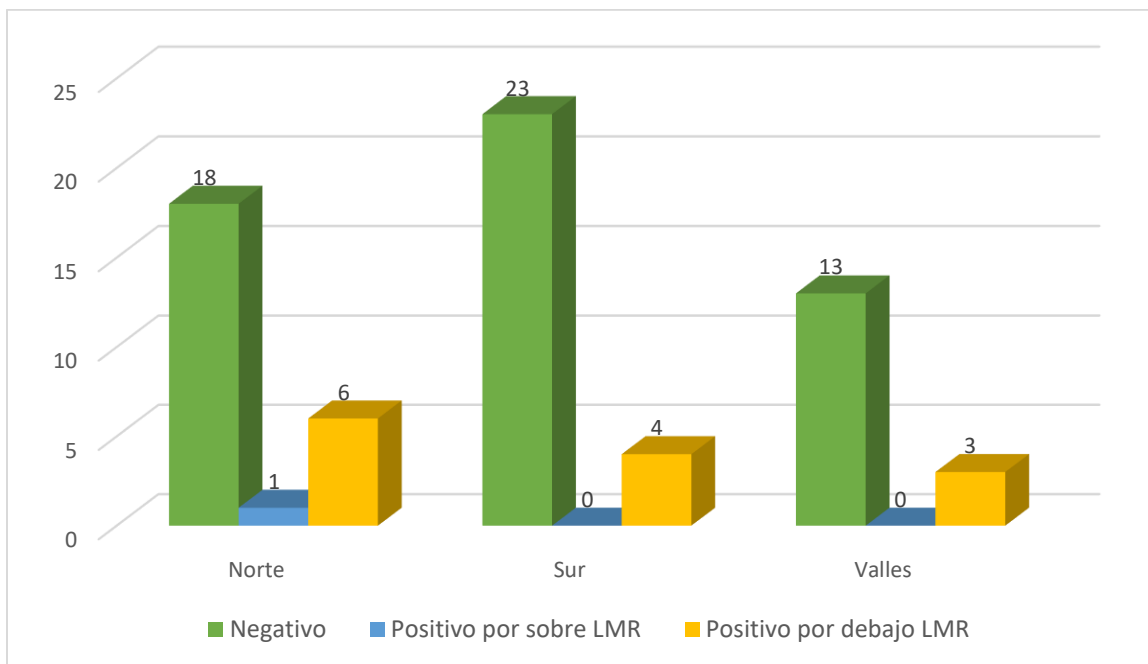


Figura 5. Resultados obtenidos del análisis de residuos de enrofloxacin por sector del DMQ.

En el caso del sulfametoxazol, se mostró casi inexistente con un porcentaje de 1.19% ($n=1/84$) de positivos por debajo de los LMR del total de la muestra, pero al igual que en el caso de la enrofloxacin, el sector Norte fue el que presentó el resultado positivo (figura 6).

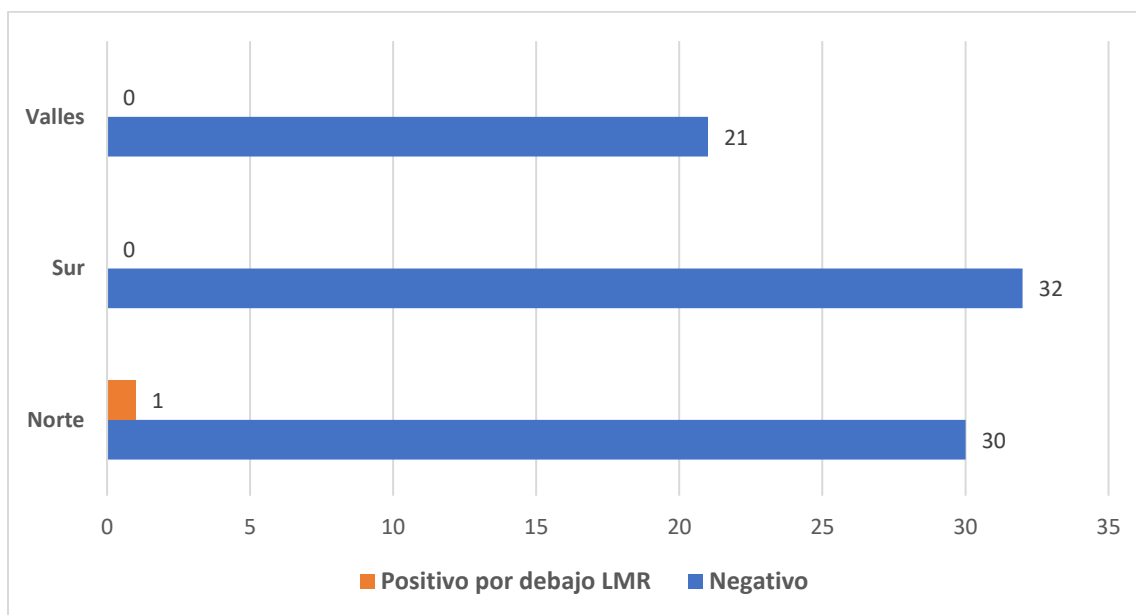


Figura 6. Resultados obtenidos del análisis de sulfametoxazol en sectores del DMQ.

Al analizar la información obtenida de los dos antibióticos (enrofloxacina y sulfametoxazol) estudiados y el sector, mediante un programa estadístico y realizar pruebas como Chi cuadrado de Pearson, se obtuvo un valor no significativo de 0.629 y 0.421, respectivamente, siendo ambos valores superiores a 0.05, resultando no tener significancia estadística, es decir, que las muestras positivas no tienen relación con el sector en el que fueron obtenidas.

4.2.2. Administración zonal

En cada una de las administraciones zonales se encontraron muestras positivas a residuos de enrofloxacina (tabla 9), encontrándose una muestra por sobre los LMR, siendo esta perteneciente a Calderón. La administración zonal Manuela Sáenz cuenta con el mayor número de casos positivos, es decir el 21.43% (n=3/14).

Tabla 9

Resultados de los residuos de enrofloxacin por administración zonal del DMQ.

Administración Zonal	Negativo	Positivo sobre los LMR	Positivo bajo los LMR
Calderón	5	1	1
Eugenio Espejo	7	0	2
Manuela Sáenz	6	0	3
La Delicia	8	0	1
Eloy Alfaro	7	0	2
Quitumbe	8	0	1
Tumbaco	7	0	2
Los Chillos	6	0	1
Total	54	1	13

Para el antibiótico sulfametoxazol, este fue encontrado en una sola muestra, siendo el 1.19% ($n=1/84$) del total de muestras analizadas, este valor positivo fue encontrado en la administración zonal Manuela Sáenz, la misma que en el caso de la enrofloxacin resultó ser la de mayor número de muestras positivas.

Al analizar los datos obtenidos entre las administraciones zonales y el tipo de antibiótico (enrofloxacin y sulfametoxazol) mediante Chi cuadrado de Pearson se obtuvieron valores estadísticamente no significativos de 0.681 y 0.380, indicando que no existe relación entre la administración zonal y los resultados obtenidos, es decir, que existe la probabilidad de encontrar positivos en cualquier administración zonal.

4.2.3. Parroquia

Las parroquias tomadas en cuenta en el presente estudio fueron un total de 23. En la tabla 10 se puede observar que las que cuentan con mayores casos de positivos son las parroquias San Juan y San Bartolo con un porcentaje de 14.3% (n=2/14) cada una, del total de muestras positivas para residuos de enrofloxacin.

Tabla 10

Resultados obtenidos del análisis de enrofloxacin por parroquia del DMQ.

Parroquia	Negativo	Positivo sobre	
		los LMR	los LMR
Calderón	4	0	1
Llano Chico	1	1	0
La Kennedy	2	0	1
Belisario Quevedo	2	0	1
Iñaquito	3	0	0
Centro Histórico	3	0	1
San Juan	1	0	2
Itchimbia	2	0	0
Condado	4	0	0
Comité del Pueblo	2	0	1
Ponceano	2	0	0
San Bartolo	1	0	2
Ferroviana	3	0	0
Solanda	3	0	0
La ecuatoriana	3	0	0
Chillogallo	2	0	1

Quitumbe	3	0	0
Yaruquí	2	0	1
Tumbaco	3	0	0
Cumbayá	2	0	1
Conocoto	3	0	0
Alangasí	2	0	1
Amaguaña	1	0	0
Total	54	1	13

La muestra resultante positiva para el análisis de residuos de sulfametoxazol es perteneciente a la parroquia San Juan, siendo la cual también presentó casos positivos para enrofloxacina.

Al realizar el Chi cuadrado de Pearson se obtuvieron valores no significativos al analizar la relación entre los antibióticos y las parroquias del estudio. Los valores de significancia fueron de 0.199 para sulfametoxazol y 0.181 para enrofloxacina, demostrando que no existe relación entre las diferentes parroquias y la presentación de muestras positivas.

4.2.4. Local de expendio

4.2.4.1. Enrofloxacina

En el caso de enrofloxacina se trabajó con 68 muestras en total, por lo que a diferencia de la figura 2, en la figura 7 se observan porcentajes más homogéneos entre tercenas, mercados y supermercados.

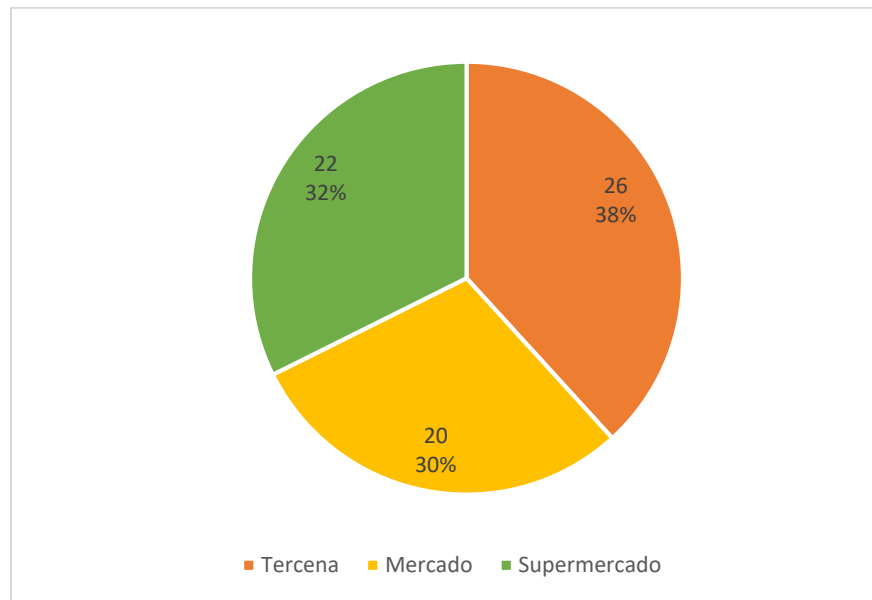


Figura 7. Número y porcentaje de muestras procesadas para enrofloxacin por local de expendio.

En el caso de enrofloxacin, se trabajó con un número similar de muestras por local de expendio de carne de pollo, dando como resultado que las tercenas cuentan con mayor número de casos positivos (figura 8), incluyendo una muestra por sobre los LMR. Sin embargo, al analizar los datos por medio de un programa estadístico (SPSS), y realizar la prueba Chi cuadrado de Pearson, se observó un valor de significancia de 0.365, el cual indica que no existe diferencia significativa entre tipo de local de expendio, es decir, en cualquier local de venta de carne de pollo, existe la probabilidad de encontrar muestras positivas.

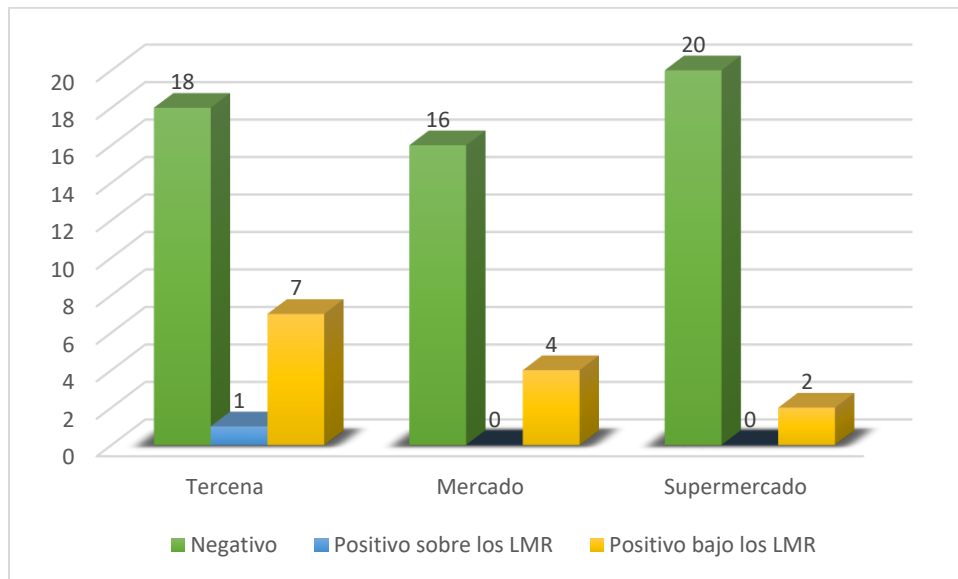


Figura 8. Resultados obtenidos de enrofloxacina por tipo de local de expendio del DMQ.

4.2.4.2. Sulfametoxazol

El análisis realizado en el caso del antibiótico sulfametoxazol, muestra un solo valor positivo, correspondiente a una tercena, y su resultado ante pruebas como Chi cuadrado de Pearson resulta ser no significativo con un valor de 0.573. Lo que se debe tomar en cuenta es que esta muestra también resultó positiva para enrofloxacina, mostrando existir residuos de antibióticos múltiples.

4.3. Discusión

En varios países como: Turquía, Perú y Colombia se han realizado estudios similares a este, ya que existe un creciente control y preocupación a nivel mundial por los residuos de antibióticos en las especies de consumo. En países vecinos han

determinado qué familias de antibióticos son las más usadas y recomendadas en el campo avícola, es así como Astaíza, Benavides, López, y Portilla (2014) encontraron en Colombia que las quinolonas y sulfonamidas son de las familias que se recetan comúnmente en la avicultura, por lo que sugieren realizar investigaciones que determinen la presencia de residuos de estos antibióticos en alimentos de consumo humano, así como se realizó en el presente.

En el país existen pocos estudios realizados en aves de corral uno de esos es el de Pacheco (2017), quien realizó una prueba de cribado para detección de residuos de antibióticos en general, en 72 muestras de carne de pollo en la ciudad de Cuenca, dando como resultado que existen residuos de antibióticos entre el 94 y 100% de las muestras analizadas, estos datos, superan cuantiosamente los resultados obtenidos en esta investigación, ya que apenas el 16.6% de las muestras resultaron positivas (porcentaje obtenido de la suma de los dos antibióticos analizados). Los kits rápidos usados para la presente tesis fueron específicos para enrofloxacin y sulfametoxazol, pudiendo las muestras analizadas tener otro tipo de antibióticos no tomados en cuenta, lo que puede explicar la diferencia porcentual entre ambos estudios.

Estrella (2017), en la ciudad de Ambato analizó la presencia de residuos de quinolonas (enrofloxacin) y sulfonamidas (sulfonamida) en 53 muestras de pechuga de pollo provenientes de mercados, demostrando la presencia de residuos de estas familias, siendo en este caso el porcentaje de enrofloxacin menor al obtenido en este trabajo, ya que del total de las muestras solo el 13.20% resultaron positivos y en valores permitidos, esto pudiendo ser resultado de un bajo uso de este fármaco o el respeto de su tiempo de retiro. En el caso de la familia de las sulfonamidas, en la investigación citada se obtuvo que el 41.50% de las muestras fueron positivas y en el presente estudio, el porcentaje de positivos fue de apenas

el 1.19%, observándose que la diferencia existente radica en el antibiótico buscado, notándose un mayor uso de sulfonamida que de sulfametoxazol, lo cual puede ser tomado en cuenta para nuevas investigaciones.

Barrios (2012) encontró en Perú, resultados alarmantes y diferentes a los obtenidos en el presente estudio, ya que en 100% de las muestras de hígado y carne de pollo analizadas existían residuos por sobre y bajo los LMR de quinolonas y sulfonamidas. Esta diferencia en porcentajes puede ser explicada, ya que en la investigación citada se buscó la presencia de residuos de una familia como tal y no de un solo antibiótico, por lo que en este caso el porcentaje obtenido puede pertenecer a varios integrantes de esta, aumentando la probabilidad de encontrar positivos. Además, se analizaron muestras de hígado, donde se puede encontrar la presencia de fármacos y en concentraciones superiores a la del músculo, ya que la mayoría de estos se metabolizan en este órgano, por lo que, si se hubiese incluido en el presente estudio, es muy probable que el número de casos positivos habría aumentado considerablemente.

Azañero y Chiroque (2010) analizaron un total de 20 muestras de carne de pollo, en cuatro mercados de Lima, Perú, para diferentes antibióticos, entre estos, sulfametoxazol y ciprofloxacina (metabolito de la enrofloxacina), obteniendo que el 75% de las muestras para el primer antibiótico y 50% de las muestras para el segundo antibiótico sobrepasan los LMR, datos que difieren de los obtenidos en la presente tesis, ya que apenas el 1.47% de muestras de enrofloxacina sobrepasa el LMR y, en el caso del sulfametoxazol, se mantiene por debajo del LMR. Esta diferencia en los resultados obtenidos puede deberse a la cantidad de muestras recolectadas, siendo estas de menor número en comparación de las analizadas en la presente investigación y también a que se realizó el muestreo en un solo tipo de centro de expendio, el cual fue en mercados, estos no teniendo un control de calidad

e inocuidad adecuados, ya que no cuentan con proveedores específicos y es común que se desconozca la proveniencia de los productos ofertados.

Er y otros (2013) realizaron un estudio en Ankara, Turquía, mediante una prueba de screening basada en la técnica ELISA para detección de quinolonas en 127 muestras de carne de pollo proveniente de mercados locales, obteniendo que el 45.7% de muestras fueron positivas para quinolonas, siendo este valor el doble del obtenido en las muestras provenientes de los mercados locales, debiendo tomarse en cuenta la diferencia entre el número de muestras analizadas y que el kit ELISA adquirido para el presente estudio es específico para enrofloxacin y no para toda la familia de quinolonas, pudiendo ser esta la razón de la diferencia entre los porcentajes obtenidos.

Vera y Cuesta (2013) realizaron un análisis en el mercado número uno de la ciudad de Portoviejo, donde buscaron residuos de enrofloxacin y florfenicol, los resultados logrados fueron parecidos a los obtenidos en este estudio, ya que encontraron la presencia de enrofloxacin, pero por debajo de los LMR en las muestras provenientes de mercados. En el presente estudio se encontró una muestra por sobre los LMR, la cual fue proveniente de una ternera, demostrando que no se está realizando un control adecuado de la inocuidad de la carne de pollo, siendo esto un riesgo para la población del DMQ.

Un estudio realizado en Cartagena - Colombia por Acevedo et al (2015), se analizó la presencia de residuos de varios antibióticos, entre estos sulfametoxazol y ciprofloxacina en tiendas de barrio, supermercados y un mercado, encontrándose que a diferencia del presente estudio, todas las muestras analizadas provenientes del mercado y tiendas de barrio sobrepasan los LMR, pudiendo deberse a que en dicho país no se esté realizando un control adecuado del uso de estos fármacos,

además, que se usó la técnica diagnóstica de oro recomendada para este tipo de estudios. En el caso de los supermercados estos mantenían los residuos de sulfametoxazol y ciprofloxacina por debajo de los LMR, al igual que lo observado en este trabajo, debido a que estos establecimientos prestan mayor control en sus productos con el fin de garantizar la calidad e inocuidad de estos.

Ramatla et al (2017) realizaron un estudio para detección de antibióticos de varias familias, entre estos ciprofloxacina, mediante varias pruebas de diagnóstico, entre ellas la técnica ELISA. Obteniendo varios valores sobre los LMR a diferencia de esta investigación, en el cual solo se observó un positivo sobre los LMR, la diferencia entre los valores encontrados radica en que la investigación citada se trabajó con una muestra tres veces más grande, lo cual aumenta la probabilidad de encontrar positivos. Además, acorde con la presente investigación donde se encontró 1.19% de residuos multidroga en las muestras, en el estudio citado se encontraron residuos de varios antimicrobianos en el 3% de las muestras siendo esta situación preocupante y delicada, ya que esto demuestra el uso inadecuado de medicamentos en animales de producción, como el irrespeto por el tiempo de retiro necesario para proteger la salud del consumidor

5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se detectaron residuos de los antibióticos: enrofloxacin y sulfametoxazol, en muestras de pechuga de pollo tomadas en distintas parroquias del DMQ, por medio de la técnica ELISA de tipo competitivo. Del total de las muestras del estudio el 16.6 % resultaron positivas a la presencia de uno o los dos antibióticos estudiados.
- Se encontró la presencia de residuos de enrofloxacin y sulfametoxazol, en su mayoría siendo valores dentro de lo permitido y una sola muestra (enrofloxacin) por sobre los LMR. Además, se encontró una muestra que contenía residuos de enrofloxacin y sulfametoxazol, lo cual es preocupante. En general se observa que en el DMQ se está respetando el tiempo de retiro para cada fármaco estudiado, pero que todavía se debe monitorear su uso.
- En el caso de la familia de sulfonamidas se observa que existe baja presencia de sulfametoxazol en el DMQ, pero en estudios realizados en otras ciudades se puede evidenciar el uso común de otros integrantes de esta familia como sulfonamida o sulfadiazina que no han sido estudiados en Quito.
- No hubo diferencia estadística entre el origen de las muestras y la presentación de casos positivos a los antibióticos analizados, esto probablemente debiéndose al tamaño de la muestra, ya que numéricamente si se observa una relación entre estas variables.

5.2. Recomendaciones

- Realizar estudios similares, que generen información sobre la presencia de enrofloxacin y sulfametoxazol en diferentes músculos como el muslo de pollo, en vísceras, ya que estos datos todavía son desconocidos.
- Se recomienda realizar estudios similares en diferentes lugares del país, e incluso repetir el presente estudio en la ciudad de Quito, ya que la investigación realizada contó con pocas muestras.
- Existe gran variedad de antimicrobianos usados en la carne de pollo, por lo que estos deberían ser estudiados, ya que la mayoría no han sido estudiados, existiendo un gran vacío de información en la ciudad de Quito y en el país.
- Elegir la técnica diagnóstica adecuada, tomando en cuenta su costo, número de muestras con las que se puede trabajar y la seriedad de la empresa que los distribuye, ya que todo lo mencionado puede influir en el estudio en gran medida.

REFERENCIAS

- Acevedo, D., Montero, P. M., & Jaimes, J. D. C. (2015). Determinación de Antibióticos y Calidad Microbiológica de la Carne de Pollo Comercializada en Cartagena (Colombia). *Informacion Tecnologica*, 26(1), 71–76. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000100008>
- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2016). *Prospecto Amoxicilina*. Retrieved from <https://botplusweb.portalfarma.com/documentos/2017/3/9/112571.pdf>
- AGROCALIDAD. (2015). Toma, Conservación y Envío de Muestra de Carne Para el Laboratorio de Contaminantes de Productos Pecuarios. Retrieved from <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2016/09/INTCPP01-instruc-toma-y-envio-de-muestras.pdf>
- AGROCALIDAD. (2016). *Manual De Aplicabilidad De Buenas Prácticas Avícolas*. Retrieved from <http://www.agrocalidad.gob.ec/documentos/dia/manual-avicola-08-11-2016.pdf>
- Aillón, M. (2012). *Propuesta E Implementación De Un Proyecto Comunitario Que Se Dedicará A La Crianza, Producción Y Comercialización Avícola En La Parroquia De Ascázubi*. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1473/1/T-UCE-0003-272.pdf>
- Apolo, J. (2015). “*Aislamiento de Escherichia coli en Pollos de Engorde con Afección Respiratoria y Determinación de la Sensibilidad Frente a los Antibióticos Utilizados en el Cantón Balsas, Provincia de El Oro.*” Universidad Nacional de Loja. Retrieved from <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10710/1/TESIS PATRICIO APOLO.pdf>
- Arias, C., & Lomas, P. (2013). *Análisis de los Factores que Determinan la*

- Sostenibilidad y Sustentabilidad de la Economía Social y Solidaria para la Crianza y Comercialización de Aves en Pie, Derivados y Faenados en los Cantones de Quito, Cayambe y Pedro Moncayo.* Universidad Politécnica Salesiana. Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5864/1/UPS-QT04167.pdf>
- Astaíza, J., Benavides, C., López, M., & Portilla, J. (2014). Diagnóstico De Los Principales Antibióticos Recomendados Para Pollo De Engorde (Broiler) Por Los Centros Agropecuarios Del Municipio De Pasto, Nariño, Colombia, 99–110. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n27/n27a09.pdf>
- AVINEWS. (2017). Ecuador: Avicultura Provee La Mayor Fuente De Proteína Animal. Retrieved October 4, 2018, from <https://avicultura.info/ecuador-avicultura-provee-la-mayor-fuente-de-proteina-animal/>
- Azañero, G., & Chiroque, M. (2010). Detección y Cuantificación de Residuos Antimicrobianos en Tejido Muscular de Pollo en Cuatro Mercados de Lima Cercado. Retrieved from http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1633/Aza%F1ero_rg.pdf?sequence=1
- Baroni, E. (2004). *Influencia De La Edad Y Estado Sanitario Sobre El Comportamiento Farmacocinético De La Sulfametazina En Bovinos (“Bos taurus”) Y Su Comparación Con Bubalinos (“Bubalus bubalis”).* Universidad Complutense de Madrid. Retrieved from <http://webs.ucm.es/BUCM/tesis/vet/ucm-t27446.pdf>
- Barrios, L. (2012). *Estudio De Los Niveles De Residuos De Antibióticos En Músculo E Hígado De Pollos Beneficiados En La Ciudad De Tacna, 2011.* Retrieved from http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/675/TM0121.pdf?sequence=1&isAllowed=y&fbclid=IwAR3FLI3WvcOIkeCOLnpuetuh9jnLoR6hYvJ3WHC_qqfSyY9CGUhDOEYiHxU
- Bertran, K., Lee, D.-H., Criado, M. F., Balzli, C. L., Killmaster, L. F., Kapczynski, D.

R., & Swayne, D. E. (2018). Maternal Antibody Inhibition of Recombinant Newcastle Disease Virus Vected Vaccine in a Primary or Booster Avian Influenza Vaccination Program of Broiler Chickens. *Vaccine*, 36(43), 6361–6372. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.09.015>

BIOO Scientific Corp. (2013). *Enrofloxacin ELISA Test Kit Manual*. Retrieved from <http://www.generon.it/dati/allegati/originali/maxsignal-enrofloxacin-elisa-test-kit-bos1017-01-um-en-20160318.pdf>

BIOO Scientific Corp. (2015). *Sulfamethoxazole ELISA Test Kit Manual*. Retrieved from <http://www.generon.it/dati/allegati/originali/maxsignal-sulfamethoxazole-elisa-test-kit-bos1054-01a-um-en-20160318.pdf>

Chang, S., Verdezoto, A., & Estrada, L. (2009). *Analisis de la Avicultura Ecuatoriana*. Retrieved from <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/743/1/1392.pdf>

Comisión de la Unión Europea. (2010). Reglamento (UE) no 37/2010 de la Comisión de 22 de Diciembre de 2009 Relativo a las Sustancias Farmacológicamente Activas y su Clasificación por lo que se refiere a los Límites Máximos de Residuos en los Productos Alimenticios de Origen Animal. https://doi.org/10.3000/17252512.L_2010.015.spa

CONAVE. (2013). Estadísticas Avícolas. Retrieved from [http://www.conave.org/upload/informacion/Estadisticas avicolas.pdf](http://www.conave.org/upload/informacion/Estadisticas%20avicolas.pdf)

Cóppola, B. (2014). Residuos de medicamentos veterinarios en alimentos de origen animal. *Plan Agropecuario Uruguay*. Retrieved from https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R150/R_150_48.pdf

Crespo, M. (2011). *Propuesta De Una Zonificación Comercial Para La Ciudad De Quito. Aplicación De Geomarketing*. Retrieved from <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/10916/6.16.001352.pdf?>

sequence=4

- Cuong, N. V, Padungtod, P., Thwaites, G., & Carrique-Mas, J. J. (2018). Antimicrobial Usage in Animal Production: A Review of the Literature with a Focus on Low- and Middle-Income Countries. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 7(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics7030075>
- El Telégrafo. (2017). Ecuatorianos Consumen 32 kg De Pollo Al Año. Retrieved October 4, 2018, from <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/8/ecuatorianos-consumen-32-kg-de-pollo-al-ano>
- Er, B., Onurdag, F. K., Demirhan, B., Ozgacar, S. O., Oktem, A. B., & Abbasoglu, U. (2013). Screening Of Quinolone Antibiotic Residues In Chicken Meat And Beef Sold In The Markets Of Ankara, Turkey. *Poultry Science*, 92(8), 2212–2215. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03072>
- Errecart, V., Sosa, M., & Sosa, M. A. (2013). Análisis del Mercado Mundial de Carnes. Retrieved from [http://www.unsam.edu.ar/escuelas/economia/economia_regional/CERE - Mayo - 2015.pdf](http://www.unsam.edu.ar/escuelas/economia/economia_regional/CERE-Mayo-2015.pdf)
- Estrella, V. (2017). *Estudio Piloto Sobre El Análisis De Residuos De Antibioticos En Pechuga De Pollos Comercializados En La Ciudad De Ambato*. Retrieved from [http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26348/1/Tesis_99_Medicina Veterinaria y Zootecnia -CD 513.pdf?fbclid=IwAR0YHhm5T3nc1c_iAXAhjvLyN2nKtYtN1ziftwRIIRIBTu6NrAdlbe05ZJI](http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26348/1/Tesis_99_Medicina_Veterinaria_y_Zootecnia-CD_513.pdf?fbclid=IwAR0YHhm5T3nc1c_iAXAhjvLyN2nKtYtN1ziftwRIIRIBTu6NrAdlbe05ZJI)
- Fall-Niang, N. K., Sambe-Ba, B., Seck, A., Deme, S. N., Wane, A. A., Bercion, R., ... Gassama-Sow, A. (2019). Antimicrobial Resistance Profile of Salmonella Isolates in Chicken Carcasses in Dakar, Senegal. *Foodborne Pathogens and Disease*, fpd.2018.2459. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2459>

- Gan, S. D., & Patel, K. R. (2013). Enzyme Immunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(9), 1–3. <https://doi.org/10.1038/JID.2013.287>
- Gómez, J., García-Vázquez, E., & Hernández-Torres, A. (2015). *Revisión: Los Betalactámicos En La Práctica Clínica. Rev Esp Quimioter* (Vol. 28). Retrieved from http://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_28_1_gomez.pdf
- Horlock, C. (2010). Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA). *Bitesized Immunology*, 2. Retrieved from <http://inmunologia.eu/tecnicas-experimentales/ensayo-de-inmunoabsorcion-ligado-enzima-elisa>
- Imran, M., Habib, F.-, Majeed, S., Tawab, A., Rauf, W., Rahman, M., ... Iqbal, M. (2018). LC-MS/MS-Based Determination Of Chloramphenicol, Thiamphenicol, Florfenicol And Florfenicol Amine In Poultry Meat From The Punjab-Pakistan. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35(8), 1530–1542. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1463569>
- Jarama, C. (2016). *Evaluación de Caracteres de Crecimiento y Mortalidad en Dos Líneas de Pollo de Engorde en Condiciones de Altitud*. Universidad Politécnica Salesiana. Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/12733/1/UPS-CT006605.pdf>
- LABORATORIO CHILE. (2015). Ciprofloxacino - Laboratorio Chile. Retrieved February 11, 2019, from <https://www.laboratoriochile.cl/producto/ciprofloxacino/>
- LABORATORIOS LISAN. (2019). Laboratorios Lisan - Trimetoprima sulfametoxazol Lisan suspensión (40mg- 200mg/5ml). Retrieved February 11, 2019, from <https://www.lisan-cr.com/ES/productos/division-humana/trimetoprima-sulfa-suspension.html>
- Landoni, M. F., & Albarelllos, G. (2015). The Use of Antimicrobial Agents in Broiler Chickens. *Elsevier The Veterinary Journal*, 205(1), 21–27.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.04.016>

Ledesma, C., Rosario, C., Gracia-Mora, J., Tapia, G., Gutiérrez, L., & Sumano, H. (2018). Antibacterial Activity of Amoxicillin In Vitro And Its Oral Bioavailability In Broiler Chickens Under the Influence of 3 Water Sanitizers. *Poultry Science*, 97(7), 2391–2399. <https://doi.org/10.3382/ps/pey114>

López, E. (2016). *Evaluación de Dos Aditivos Comerciales Solubles con Bacterias Acidolácticas en la Crianza de Pollos Parrilleros*. Universidad Central del Ecuador. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/10153/1/T-UCE-0004-92.pdf>

Lozano, M. C. A., & Arias, C. (2008). Residuos de Fármacos en Alimentos de Origen Animal: Panorama Actual en Colombia. *Scielo*. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v21n1/v21n1a12.pdf>

Mestorino, N., Buldain, D., Buchamer, A., Gortari, L., Daniele, M., & Marchetti, M. L. (2017). Residue Depletion of Ivermectin in Broiler Poultry. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34(4), 624–631. <https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1278307>

MGAP. (2015). Análisis Sectorial y Cadenas Productivas. *MGAP*. Retrieved from http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/cadena_avicola_para_carne_situacion_y_perspectivas.pdf

Millet, S., & Maertens, L. (2011). The European Ban on Antibiotic Growth Promoters in Animal Feed: From Challenges to Opportunities. *The Veterinary Journal*, 187(2), 143–144. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.05.001>

Muaz, K., Riaz, M., Akhtar, S., Park, S., & Ismail, A. (2018). Antibiotic Residues in Chicken Meat: Global Prevalence, Threats, and Decontamination Strategies: A Review. *Journal of Food Protection*, 81(4), 619–627. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-086>

Nhung, N. T., Van, N. T. B., Cuong, N. Van, Duong, T. T. Q., Nhat, T. T., Hang, T.

- T. T., ... Carrique-Mas, J. (2018). Antimicrobial Residues and Resistance Against Critically Important Antimicrobials in Non-typhoidal Salmonella from meat sold at wet markets and supermarkets in Vietnam. *International Journal of Food Microbiology*, 266, 301–309. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.015>
- Noroña, G. (2017). “Determinación de Residuos de Antibióticos en Carne y Vísceras de Origen Bovino que se Expenden en la Ciudad de Quito.” *Dspace*. Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14502/1/UPS-QT12159.pdf>
- OPS. (2008). OPS/OMS Ecuador - Resistencia Antibacteriana. Retrieved May 24, 2018, from https://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_content&view=article&id=120:resistencia-antibacteriana&Itemid=292
- Pacheco, J. (2017). “Acumulación de Antibióticos en Pollo Faenado de Expendio en el Mercado Mayorista de la Ciudad de Cuenca.” *Dspace*. Retrieved from <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/7446/1/13354.pdf>
- Patel, T., Marmulak, T., Gehring, R., Pitesky, M., Clapham, M. O., & Tell, L. A. (2018). Drug Residues In Poultry Meat: A Literature Review Of Commonly Used Veterinary Antibacterials And Anthelmintics Used In Poultry. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. <https://doi.org/10.1111/jvp.12700>
- Plumb, D. (2008). *Plumb's Veterinary Drug Handbook* (Sexta Edic). Ames, Iowa: Blackwell Publishing.
- Prefectura de Pichincha. (2017). Distrito Metropolitano de Quito. Retrieved October 31, 2018, from <http://www.pichincha.gob.ec/cantones/distrito-metropolitano-de-quito>
- Ramatla, T., Ngoma, L., Adetunji, M., & Mwanza, M. (2017). Evaluation of Antibiotic Residues in Raw Meat Using Different Analytical Methods. *Antibiotics (Basel)*,

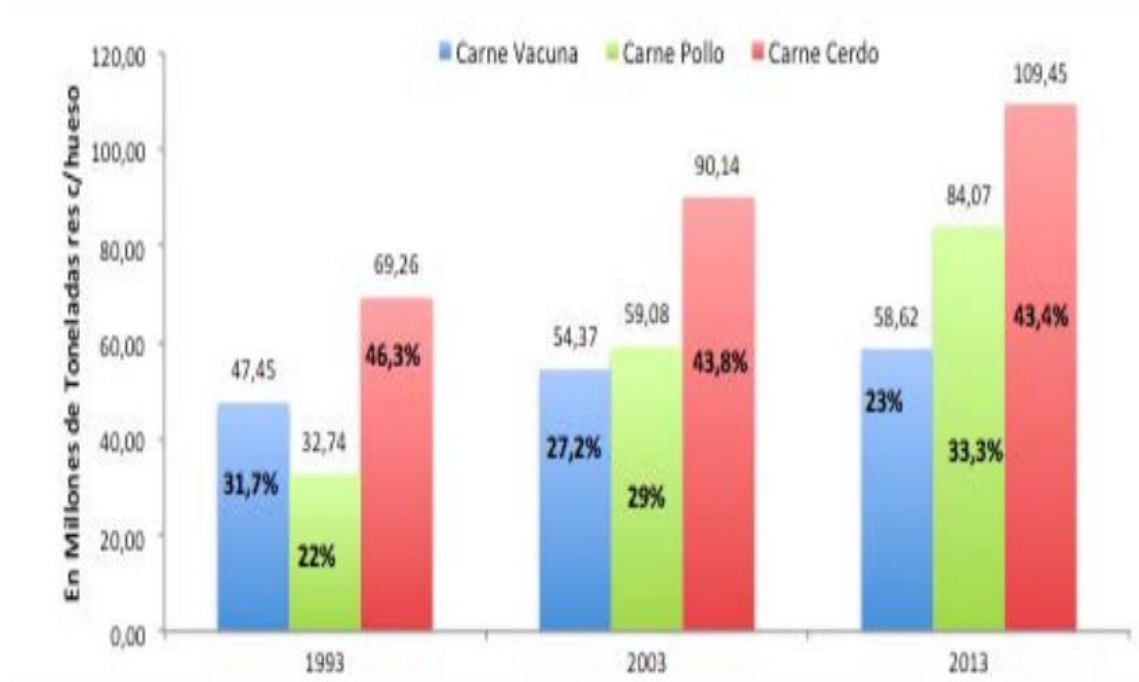
- Switzerland), 6(4). <https://doi.org/10.3390/antibiotics6040034>
- Seija, V., & Vignoli, R. (2008). *Temas De Bacteriología Y Virología Médica: Principales Grupos De Antibióticos*. Retrieved from <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA34.pdf>
- SIMCE. (2011). *Tablas de Salida del Censo Avícola Ecuatoriano*. Retrieved from <http://simce.ambiente.gob.ec/sites/default/files/documentos/anny/Tabla de Salida de Censos Avícolas Ecuatorianos.pdf>
- Suárez, C., & Gudiol, F. (2009). *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica: Antibióticos Betalactámicos*. Elsevier Doyma. Retrieved from <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X08000323>
- Talero-Pérez, V., Medina, O. J., & Rozo-Núñez, W. (2014). Contemporary Analytical Techniques To Identify Residues Of Sulfonamides, Quinolones And Chloramphenicol. *Univ. Sci*, 19(1), 11–28. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC19-1.taci>
- Valdiviezo, M. (2012). “*Determinación Y Comparación De Parámetros Productivos En Pollos Broiler De Las Líneas Cobb 500 Y Ross 308, Con Y Sin Restricción Alimenticia.*” Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2251/1/17T1147.pdf>
- Vargas, J. (2009). *Evaluación de Líneas de Pollo (Gallus gallus) de Engorde Ross 308 y Cobb 500 en Operación de Cargill en Nicaragua*. Retrieved from <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/246/1/AGN-2009-T042.pdf>
- Vera, N., & Cuesta, M. (2013). Determinación de Residuos de Antibióticos (Enrofloxacin y Florfenicol) en Carne de Pollos Faenados en el Mercado N° 1 del Canton Portoviejo en Marzo de 2013. Retrieved from <http://repositorio.utm.edu.ec/handle/123456789/717>
- Zhunaula, C. (2016). *Comparación De Un Balanceado Experimental Y Tres*

*Comerciales Con Dos Aditivos Alimenticios, En La Crianza De Pollos Parrilleros
Broiler.* Retrieved from

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8052/1/T-UCE-0004-30.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1. GRÁFICO DE LA EVALUACIÓN MUNDIAL DE LA PRODUCCIÓN DE CARNES.



Fuente: (Errecart et al., 2013).

ANEXO 2. TABLA NÚMERO DE GRANJAS, CAPACIDAD INSTALADA DE LAS MISMAS Y EXISTENCIA DE AVES EL DÍA DEL CENSO, POR LINEA DE PRODUCCIÓN Y SEGÚN PROVINCIA.

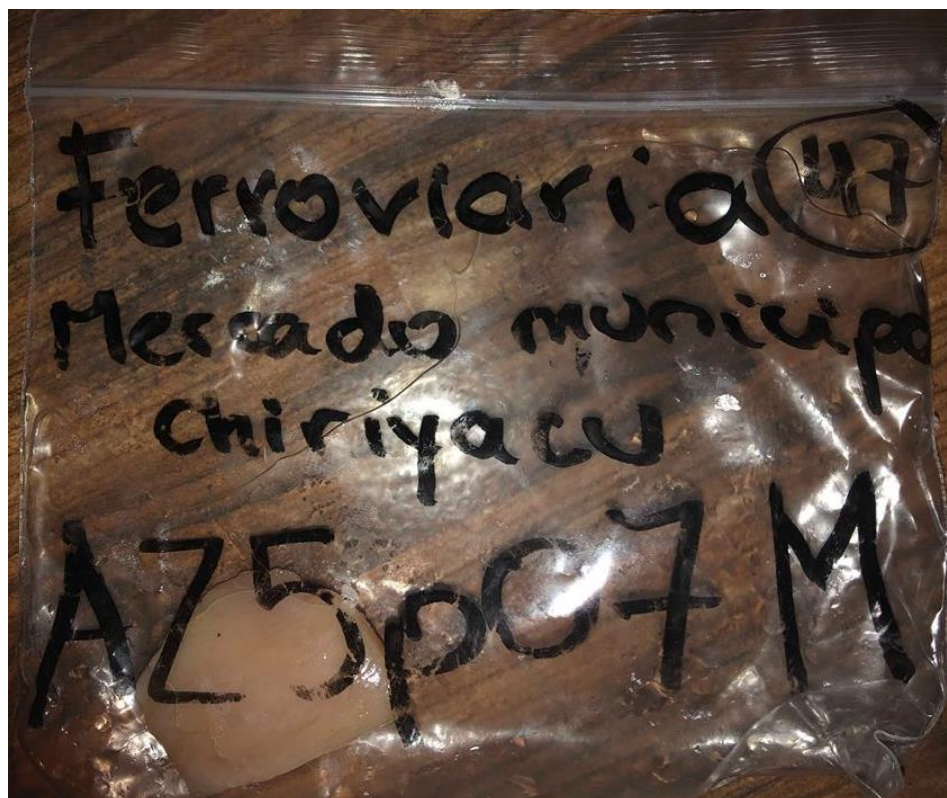
REGIÓN/Provincia	Pollos (Broilers)			Reproductoras Pesadas			Reproductoras Livianas			Ponedoras		
	Número de Granjas	Capacidad Broiler	Número de Pollos (broilers)	Número de Granjas	Capacidad Rep. Pesadas	Número de Reproductoras Pesadas	Número de Granjas	Capacidad Rep. Livianas	Número de Reproductoras Livianas	Número de Granjas	Capacidad Ponedoras	Número de Ponedoras de huevos de mesa
TOTAL NACIONAL	1.223	28.383.190	18.850.808	41	2.087.100	1.550.971	10	281.500	123.200	284	9.729.684	7.940.606
REGION SIERRA	620	14.015.930	9.230.347	26	1.359.500	992.837	4	163.200	52.500	196	7.425.699	6.224.321
REGION COSTA	448	12.269.425	8.006.745	10	625.800	494.834	4	90.100	47.500	82	2.276.810	1.703.500
REGION AMAZONICA Y ZC	155	2.097.835	1.613.716	5	101.800	63.300	2	28.200	23.200	6	27.175	12.785
Azuay	70	465.600	192.235	2	52.000	51.000	0	0	0	0	0	0
Bolivar	4	56.800	40.200	1	15.000	9.500	0	0	0	0	0	0
Cañar	44	427.150	234.350	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Carchi	12	607.500	488.000	1	40.000	7.000	0	0	0	0	0	0
Cotopaxi	15	164.000	65.500	2	178.500	147.818	0	0	0	25	1.082.319	987.317
Chimborazo	38	1.414.000	1.201.870	0	0	0	0	0	0	9	91.430	67.100
El Oro	206	2.299.975	890.105	0	0	0	0	0	0	1	50.000	50.000
Esmeraldas	4	71.700	52.100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Guayas	80	7.639.800	5.951.900	5	543.000	435.734	2	21.000	5.000	1	110.480	140.000
Imbabura	68	1.960.180	776.623	3	87.000	48.000	0	0	0	1	15.000	15.000
Loja	61	558.850	251.960	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Los Rios	31	524.600	352.880	1	18.800	18.100	2	69.100	42.500	1	16.000	16.000
Manabi	127	1.733.350	759.760	4	64.000	41.000	0	0	0	79	2.100.330	1.497.500
Morona Santiago	15	39.135	11.500	0	0	0	0	0	0	1	1.035	1.035
Napo	11	46.500	25.600	5	101.800	63.300	0	0	0	0	0	0
Pastaza	26	383.700	278.800	0	0	0	2	28.200	23.200	0	0	0
Pichincha	246	7.694.050	5.581.259	17	987.000	729.519	4	163.200	52.500	28	1.438.350	1.217.649
Tungurahua	62	667.800	398.350	0	0	0	0	0	0	133	4.798.600	3.937.255
Zamora Chinchipe	54	47.540	12.479	0	0	0	0	0	0	2	23.100	10.700
Sucumbios	7	49.900	19.707	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Orellana	28	59.060	35.330	0	0	0	0	0	0	3	3.040	1.050
Zonas en conflicto	14	1.472.000	1.230.300	0	0	0	0	0	0	0	0	0

FUENTE: (SIMCE, 2011).

ANEXO 3. CODIFICACIÓN PARA ETIQUETAR LAS MUESTRAS

Administración zonal	Parroquia	Tercena	Mercado	Super mercado
AZ	P	T	M	S
Número dado a la administración zonal (del 1 al 8)	Número de parroquia por A. zonal	Número de tercena tomada en la parroquia	Número de mercado tomado en la parroquia	Número de supermercado tomado en la parroquia
Se colocó un número del 1 al 84 según el orden de toma de la muestra y el nombre del local comercial				

ANEXO 4. MUESTRA ETIQUETADA



ANEXO 5. PROTOCOLO PARA PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE CARNE ENROFLOXACINA

SAMPLE PREPARATION

Be sure samples are properly stored. In general, samples should be refrigerated at 2-4°C for no more than 1-2 days. Freeze samples to a minimum of -20°C if they need to be stored for a longer period. Frozen samples can be thawed at room temps (20 – 25°C / 68 – 77°F) or in a refrigerator before use.

1. Preparation of 1X Sample Extraction Buffer:

Mix 1 volume of 10X Sample Extraction Buffer with 9 volumes of distilled water.

2. Preparation of 35% Methanol/Sample Extraction Buffer

Mix 6.5 volumes of 1X Sample Extraction Buffer with 3.5 volumes of 100% methanol.

3. Preparation of 98% Methanol/Enro/Cipro Extraction Buffer

Mix 2 volumes of Enro/Cipro Extraction Buffer with 98 volumes of 100% methanol

***Notes:** The recommended dilution factors for different type of samples shown below are minimum ones in order to achieve the lowest detection limit. The dilution factor can be tailored to meet larger sample positive cutoff value. For example, if the positive cutoff value for meat sample is set up at 100 ppb, dilute meat sample with 1X Sample Extraction Buffer 100 times instead of 10. After the dilution, the positive sample cutoff value stays in the linear range of the standard curve.*

Meat/Liver/Kidney

1. Remove fat from the sample. Homogenize the sample with a suitable mixer.
2. Weigh out 1.0 g of the homogenized sample and add 4 mL of 35% Methanol/Sample Extraction Buffer and 50 µL of Meat Extraction Buffer I.
3. Vortex for 10 minutes at maximum speed.
4. Centrifuge for 10 minutes at 4,000 x g at room temperature (20 – 25 °C / 68 – 77 °F).
5. Transfer 0.5 mL of the supernatant to a tube, add 25 µL of Meat Extraction Buffer II and 1.5 mL of 35% Methanol/Sample Extraction Buffer, vortex for 30 seconds.
6. Take 50 µL of the supernatant for the assay.

***Note:** Dilution factor: 20.*

ANEXO 6. PERMISOS OBTENIDOS DE LA SECRETARIA TÉCNICA DE DROGAS.



MINISTERIO DEL INTERIOR
SUBSECRETARIA DE SEGURIDAD CIUDADANA

Permiso No. P17-006803-1
Fecha: 26/11/2018
Recibo No. 5948
Form. No. 7

La Dirección de Control de Sustancias Catalogadas autoriza a:

IZA GUZMAN DAYSI LUCIA

Con dirección: AV. INTEROCEANICA KM 14 1/2, LA GRANJA MAG, TUMBACO

Con Céd / RUC: 1722958475

La compra de:

Sustancia	Cantidad	Unid.	Uso
ACEYATO DE ETILO	4.00	l	OBTENCIÓN DE LA MUESTRA (CARNE DE POLLO)
HEXANO	4.00	l	OBTENCIÓN DE LA MUESTRA (CARNE DE POLLO)

A la empresa: PROVEEDORA DE LABORATORIO PROVELAB CIA. LTDA.

Calificación: 17-0868-I

Código: 3426

comprometiéndose legalmente a controlar, mediante un registro de ingresos y egresos, la utilización de estas sustancias para los fines constantes en la solicitud y autorización.

Autorizado por



Ab. Jaqueline Araujo Yáñez
COORDINADORA ZONAL 9



NOTA: Este documento caducará en el término de 8 días después de la fecha de emisión, el mismo que le facilitará adquirir por UNA SOLA VEZ y cuyo original retendrá la empresa comercializadora como documento de descargo.

ANEXO 7. PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE CARNE DE SULFAMETOXAZOL

SAMPLE PREPARATION

Be sure samples are properly stored. In general, samples should be refrigerated at 2-4°C for no more than 1-2 days. Freeze samples to a minimum of -20°C if they need to be stored for a longer period. Frozen samples can be thawed at room temperature (20 – 25°C / 68 – 77°F) or in a refrigerator before use.

♣ **Preparation of 1X Sample Extraction Buffer:**

Mix 1 volume of 10X Sample Extraction Buffer E with 9 volumes of distilled water.

♣ **Preparation of 2 M NaCl** (for Fish/shrimp/Meat/Liver/Kidney):

Dissolve 11.69 g NaCl in distilled water to 100 mL.

♣ **Preparation of Acetonitrile (ACN)-Water Solution**(for Fish/shrimp/Meat/Liver/Kidney):

Mix 84 mL of ACN with 16 mL distilled water.

♣ *The recommended dilution factors for different type of samples shown below are minimum ones in order to achieve the lowest detection limit. The dilution factor can be tailored to meet larger sample positive cutoff value.*

Fish/Shrimp/Meat/Liver/Kidney

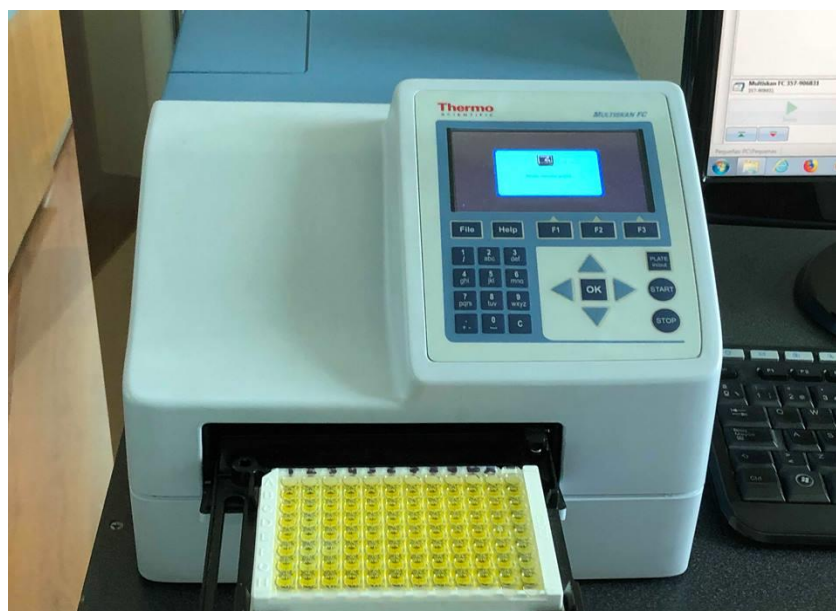
1. Remove fat from the sample. Homogenize the sample with a suitable mixer.
2. Add 9 mL of the ACN-Water Solution to 3 g of homogenized sample, shake properly for 10 min, centrifuge at 4000 rpm for 10min.
3. Transfer 4 mL of supernatant into a new centrifuge tube, add 2 mL of 2 M NaCl and 8 mL of ethyl acetate, shake for 5 min, and centrifuge at 3000 rpm for 5 min.
4. Transfer 4 mL of supernatant into a new centrifugal tube, blow to dry with nitrogen or dry completely by rotary evaporation at 50-60°C;
5. Add 1 mL of 1X Sample Extraction Buffer, shake for 1 min, add 1 mL N-hexane, mix for 2 min and centrifuge at 4000 rpm at room temperature for 5 min. Remove the upper layer.
6. Use 50 µL of lower layer sample per well for the assay.

Note: *Dilution factor: 2. If needed, the sample obtained from step 5 can be diluted with 1X Sample Extraction Buffer.*

ANEXO 8. SECADO DE LAS MUESTRAS POR MEDIO DE NITRÓGENO



ANEXO 9. LECTURA DE PLACA ELISA EN LECTOR CON LONGUITUD DE ONDA 450 NM.



ANEXO 10. BASE DE DATOS DE LAS MUESTRAS TOMADAS POR PARROQUIA Y SITIO DE EXPENDIO.

No. muestra	Parroquia	Sitio de expendio
1	Calderón	Mercado
2	Calderón	Mercado
3	Calderón	Tercena
4	Calderón	Tercena
5	Calderón	Tercena
6	Calderón	Tercena
7	Calderón	Supermercado
8	Calderón	Supermercado
9	Llano Chico	Supermercado
10	Llano Chico	Tercena
11	Llano Chico	Tercena
12	Kennedy	Tercena
13	Kennedy	Tercena
14	Kennedy	Supermercado
15	Kennedy	Mercado
16	Belisario Quevedo	Supermercado
17	Belisario Quevedo	Tercena
18	Belisario Quevedo	Mercado
19	Iñaquito	Mercado
20	Iñaquito	Supermercado
21	Iñaquito	Supermercado
22	Centro Histórico	Tercena
23	Centro Histórico	Mercado
24	Centro Histórico	Supermercado
25	Centro Histórico	Tercena
26	San Juan	Mercado
27	San Juan	Tercena
28	San Juan	Bodega
29	Itchimbia	Supermercado
30	Itchimbia	Tercena
31	Itchimbia	Tercena
32	Condado	Tercena
33	Condado	Supermercado
34	Condado	Mercado
35	Condado	Tercena
36	Comité del Pueblo	Supermercado
37	Comité del Pueblo	Tercena

38	Comité del Pueblo	Mercado
39	Ponceano	Supermercado
40	Ponceano	Supermercado
41	Ponceano	Supermercado
42	San Bartolo	Tercena
43	San Bartolo	Tercena
44	San Bartolo	Mercado
45	Ferrovial	Supermercado
46	Ferrovial	Tercena
47	Ferrovial	Mercado
48	Solanda	Supermercado
49	Solanda	Mercado
50	Solanda	Tercena
51	Solanda	Tercena
52	Ecuatoriana	Tercena
53	Ecuatoriana	Mercado
54	Ecuatoriana	Supermercado
55	Chillogallo	Tercena
56	Chillogallo	Tercena
57	Chillogallo	Mercado
58	Chillogallo	Supermercado
59	Quitumbe	Supermercado
60	Quitumbe	Mercado
61	Quitumbe	Tercena
62	Yaruquí	Mercado
63	Yaruquí	Tercena
64	Yaruquí	Supermercado
65	Tumbaco	Supermercado
66	Tumbaco	Tercena
67	Tumbaco	Mercado
68	Cumbayá	Tercena
69	Cumbayá	Supermercado
70	Cumbayá	Mercado
71	Conocoto	Tercena
72	Conocoto	Tercena
73	Conocoto	Supermercado
74	Conocoto	Mercado
75	Alangasí	Tercena
76	Alangasí	Tercena
77	Alangasí	Mercado
78	Amaguaña	Mercado

79	Amaguaña	Tercena
80	Amaguaña	Tercena
81	Tumbaco	Tercena
82	Solanda	Tercena
83	Conocoto	Tercena
84	Condado	Tercena

ANEXO 11: BASE DE DATOS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DESPUES DE REALIZAR LA PRUEBA ELISA

No. muestra	Parroquia	Enrofloxacina	Sulfametoxazol
1	Calderón	Negativo	Negativo
2	Calderón	-	Negativo
3	Calderón	-	Negativo
4	Calderón	Negativo	Negativo
5	Calderón	-	Negativo
6	Calderón	Negativo	Negativo
7	Calderón	Positivo permitido	Negativo
8	Calderón	Negativo	Negativo
9	Llano Chico	Negativo	Negativo
10	Llano Chico	Positivo no permitido	Negativo
11	Llano Chico	-	Negativo
12	Kennedy	Positivo permitido	Negativo
13	Kennedy	-	Negativo
14	Kennedy	Negativo	Negativo
15	Kennedy	Negativo	Negativo
16	Belisario Quevedo	Negativo	Negativo
17	Belisario Quevedo	Negativo	Negativo
18	Belisario Quevedo	Positivo permitido	Negativo
19	Iñaquito	Negativo	Negativo
20	Iñaquito	Negativo	Negativo
21	Iñaquito	Negativo	Negativo
22	Centro Histórico	Positivo permitido	Negativo
23	Centro Histórico	Negativo	Negativo
24	Centro Histórico	Negativo	Negativo
25	Centro Histórico	Negativo	Negativo
26	San Juan	Positivo permitido	Negativo
27	San Juan	Positivo permitido	Positivo permitido
28	San Juan	Negativo	Negativo
29	Itchimbia	Negativo	Negativo
30	Itchimbia	Negativo	Negativo
31	Itchimbia	-	Negativo
32	Condado	Negativo	Negativo
33	Condado	Negativo	Negativo
34	Condado	Negativo	Negativo
35	Condado	Negativo	Negativo
36	Comité del Pueblo	Positivo permitido	Negativo
37	Comité del Pueblo	Negativo	Negativo

38	Comité del Pueblo	Negativo	Negativo
39	Ponceano	Negativo	Negativo
40	Ponceano	Negativo	Negativo
41	Ponceano	-	Negativo
42	San Bartolo	Positivo permitido	Negativo
43	San Bartolo	Positivo permitido	Negativo
44	San Bartolo	Negativo	Negativo
45	Ferroviana	Negativo	Negativo
46	Ferroviana	Negativo	Negativo
47	Ferroviana	Negativo	Negativo
48	Solanda	Negativo	Negativo
49	Solanda	Negativo	Negativo
50	Solanda	-	Negativo
51	Solanda	Negativo	Negativo
52	Ecuatoriana	Negativo	Negativo
53	Ecuatoriana	Negativo	Negativo
54	Ecuatoriana	Negativo	Negativo
55	Chillogallo	Positivo permitido	Negativo
56	Chillogallo	-	Negativo
57	Chillogallo	Negativo	Negativo
58	Chillogallo	Negativo	Negativo
59	Quitumbe	Negativo	Negativo
60	Quitumbe	Negativo	Negativo
61	Quitumbe	Negativo	Negativo
62	Yaruquí	Positivo permitido	Negativo
63	Yaruquí	Negativo	Negativo
64	Yaruquí	Negativo	Negativo
65	Tumbaco	Negativo	Negativo
66	Tumbaco	Negativo	Negativo
67	Tumbaco	Negativo	Negativo
68	Cumbayá	Negativo	Negativo
69	Cumbayá	Negativo	Negativo
70	Cumbayá	Positivo permitido	Negativo
71	Conocoto	-	Negativo
72	Conocoto	Negativo	Negativo
73	Conocoto	Negativo	Negativo
74	Conocoto	Negativo	Negativo
75	Alangasí	Negativo	Negativo
76	Alangasí	Positivo permitido	Negativo
77	Alangasí	Negativo	Negativo
78	Amaguaña	Negativo	Negativo

79	Amaguaña	-	Negativo
80	Amaguaña	-	Negativo
81	Tumbaco	-	Negativo
82	Solanda	-	Negativo
83	Conocoto	-	Negativo
84	Condado	-	Negativo

ANEXO 15. HOJA EXCEL PARA ANÁLISIS DE VALORES OBTENIDOS DEL LECTOR ELISA

BIOO MaxSignal® ELISA Analysis Program in Excel (with BIOO Specified Standards)													
1	Use worksheet "BIOO Specified Standards" only when you follow the standards specified in BIOO manuals. All the standards are preset and automatically entered per our protocol. BIOO standards may change from time to time, please double check with product manual for confirmation, or use worksheet "Cust. Specified Standards" to input.												
2													
3	Step 1	Fill in "Test Notes"											
4	Step 2	Name the samples in "Plate Layout Diagram" (Only in blue area. DO NOT INPUT OD VALUES HERE)											
5	Step 3	Input OD values											
6	Step 4	Check on "Solvent Blank Sample"											
7	Step 5	Input Standard Concentration Values											
8	Step 6	Input Positive Cut-off Value											
9	Step 7	Input Dilution Factor											
10	Step 8	Review Test Results											
34													
35	STEP 3: OD450 INPUT												
36													
37													
38		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
39	A	1.2020	1.2060	1.2220	1.2220	1.2210	1.2210	1.2930	1.2930	0.9270	0.9270	1.2770	1.2770
40	B	1.1230	1.0740	1.2990	1.2990	1.3450	1.3450	1.3280	1.3280	1.2870	1.2870	1.3310	1.3310
41	C	0.9760	1.0110	1.2490	1.2490	1.2770	1.2770	1.2750	1.2750	1.3040	1.3040	1.2330	1.2330
42	D	0.6150	0.6720	1.1960	1.1960	1.2870	1.2870	1.2540	1.2540	1.2840	1.2840	1.2920	1.2920
43	E	0.4580	0.4670	1.1780	1.1780	1.2420	1.2420	1.2480	1.2480	1.2670	1.2670	1.2730	1.2730
44	F	0.2340	0.2420	1.2480	1.2480	1.2610	1.2610	1.2480	1.2480	1.1810	1.1810	1.2540	1.2540
45	G	1.2380	1.2380	1.1280	1.1280	1.2600	1.2600	1.2400	1.2400	1.2540	1.2540	1.2610	1.2610
46	H	1.2360	1.2360	1.2740	1.2740	1.1220	1.1220	1.2490	1.2490	1.2570	1.2570	1.2590	1.2590
47													
48													

BIOO Specified Standards

Customer Specified Standards

Worksheet



ANEXO 16. RESULTADOS OBTENIDOS DEL INGRESO DE LOS VALORES DEL LECTOR ELISA, OBSERVÁNDOSE LAS MUESTRAS POSITIVAS, NEGATIVAS Y SUS VALORES EN PPM.

BIOO MaxSignal® ELISA Analysis Program in Excel (with BIOO Specified Standards)							
Use worksheet "BIOO Specified Standards" only when you follow the standards specified in BIOO manuals. All the standards are preset and automatically entered per our protocol. BIOO standards may change from time to time, please double check with product manual for confirmation, or use worksheet "Cust. Specified Standards" to input.							
Step 1	Fill in "Test Notes"						
Step 2	Name the samples in "Plate Layout Diagram" (Only in blue area. DO NOT INPUT OD VALUES HERE)						
Step 3	Input OD values						
Step 4	Check on "Solvent Blank Sample"						
Step 5	Input Standard Concentration Values						
Step 6	Input Positive Cut-off Value						
Step 7	Input Dilution Factor						
Step 8	Review Test Results						
STEP 8: TEST SUMMARY							
Sample Name	OD-1	OD-2	B/B ₀	Results (PPB)	Pass/Fail	% Recovery	Notes
Sample1	1.747	1.747	0.688	0.0000	PASS		
Sample4	1.861	1.861	0.733	0.000	PASS		
Sample6	1.789	1.789	0.704	0.000	PASS		
Sample7	1.238	1.238	0.487	13.027	FAIL		
Sample8	1.887	1.887	0.743	0.000	PASS		
Sample9	1.829	1.829	0.720	0.000	PASS		
Sample10	0.431	0.431	0.170	326.953	FAIL		
Sample12	1.216	1.216	0.479	14.223	FAIL		
Sample14	1.984	1.984	0.781	0.000	PASS		
Sample15	1.770	1.770	0.697	0.000	PASS		
Sample16	1.883	1.883	0.741	0.000	PASS		

Test Kit Name:	1017-01 - ENROFLOXACIN
Kit Lot #:	
Sample Type:	Meat
Check in Time:	0
Detection Time:	0
Test Technician:	0
QA Technician:	0
OTHER NOTES	
0	

