UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS EN LECHE CRUDA PARA EL CONSUMO EN LA CIUDAD DE LOJA

Tesis previa a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico

AUTORA:

Jessica Elizabeth Torres Michay

DIRECTORA:

Lic. Glenda Alfarita Rodríguez León, Mg. Sc.

LOJA- ECUADOR

2018

CERTIFICACIÓN

Lic. Glenda Rodríguez León, Mg. Sc.
DIRECTORA DE TESIS

Certifica:

Que la presente tesis titulada: **Determinación de la presencia de residuos antibióticos en leche cruda para el consumo en la ciudad de Loja**, de autoría de la Srta. Jessica Elizabeth Torres Michay previo a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico, ha sido supervisada y elaborada bajo mi dirección, por lo que certifico que cumple con los requisitos establecidos por el Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja y una vez revisada autorizo su presentación ante el tribunal correspondiente.

Loja, 16 de octubre del 2018

Atentamente,

Lic. Glenda Rodríguez León, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, Jessica Elizabeth Torres Michay, declaro ser autora del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente, acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Firma:.....

Autora: Jessica Elizabeth Torres Michay

Cedula: 1106049842

Fecha: Martes 16 de octubre, 2018

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, Jessica Elizabeth Torres Michay, declaro ser autora de la tesis titulada "DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS EN LECHE CRUDA PARA EL CONSUMO EN LA CIUDAD DE LOJA", como requisito para optar al grado de Licenciada en Laboratorio Clínico; autorizo al sistema bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad en su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional: Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tengan convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización en la ciudad de Loja a los 16 días del mes de octubre del 2018, firma la autora.

Firma:.....

Autora: Jessica Elizabeth Torres Michay.

Cédula: 1106049842

Correo electrónico: jessy10eliza@gmail.com

Teléfono: (07) 2105146 – 0985818033

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Directora de Tesis: Lic. Glenda Alfarita Rodríguez León, Mg. Sc.

Tribunal de grado: Dra. Elsa Cumandá Ramírez Sanmartín, Mg. S

Lic. Gladys Margoth Jumbo Chuquimarca, Mg. Sc

Lic. Iliana Alicia Delgado, Mg, Sc.

DEDICATORIA

A Dios,

Por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por darme las fuerzas e iluminar mi mente y por poner en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante mi vida.

A mis padres,

Carmen y Marco por el apoyo constante que me han sabido brindar, por ser mi ejemplo de perseverancia y constancia y por su amor infinito.

A mi hermano John,

Por la paciencia que me ha sabido brindar y por ser la persona más fuerte que he conocido.

A mi novio Xavier,

Por ser mi ángel y cuidarme siempre, por ayudarme a levantarme cada día y luchar por ser mejores juntos.

A mis demás familiares y amigos,

Por brindarme su apoyo para poder encontrarme hoy cumpliendo una meta más.

AGRADECIMIENTO

Mis sinceros agradecimientos para todas aquellas personas que directa e indirectamente me colaboraron para que este trabajo investigativo se realice:

A la Universidad Nacional de Loja, por acogerme en su seno y propiciar mi formación profesional; así mismo a los docentes, que me brindaron lo mejor de sus conocimientos y experiencias.

A mi directora de tesis Lic. Glenda Rodríguez, por su tiempo y las instrucciones que oportunamente supo brindarme para que el presente sea culminado satisfactoriamente.

Al Ing. Ramiro Armijos, que me guio durante la realización de este trabajo, en la Planta Piloto de Procesamiento de Lácteos, de la Universidad Nacional de Loja.

Índice

CARÁTULA i

TÍTULO i

CERTIFICACIÓN ii

AUTORÍA iii

CARTA DE AUTORIZACIÓN iv

DEDICATORIA v

AGRADECIMIENTO vi

1. TÍTULO: 1

2. RESUMEN 2

SUMMARY 3

3. INTRODUCCIÓN 4

4. REVISIÓN DE LA LITERATURA 7

4.1. LECHE 7

4.1.1. Definición: 7

4.1.2. Composición de la leche 8

4.1.3. Calidad de la leche: 10

4.1.4. Propiedades: 10

4.2. ANTIBIÓTICOS 13

4.2.1. Definición: 13

4.2.2. Resistencia a antibióticos: 13

4.2.3. Clasificación: 14

4.2.4. Betalactámicos: 16

4.2.5. Tetraciclinas: 19

4.2.6. Sulfonamidas: 20

4.3. RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS: 21

4.3.1. Periodo de Retiro de antibióticos 24

4.4. IMPORTANCIA EN LA SALUD PÚBLICA. 25

4.4.1. Fármacos implicados en reacciones adversas en humanos 26

4.4.2. Pruebas para determinación de residuos de antibióticos en leche. 27

4.5. TRISENSOR TEST KIT: 28

4.5.1. Fundamento: 28

4.5.2. Materiales: 29

4.5.3. Procedimiento: 29

4.5.4. Resultados: 29

4.5.5. Sensibilidad: 30

5. MATERIALES Y MÉTODOS 31

6. RESULTADOS 33

7. DISCUSIÓN: 36

8. CONCLUSIONES: 39

9. RECOMENDACIONES 40

10. BIBLIOGRAFÍA..... 41

11. ANEXOS..... 47

1. TÍTULO:

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS EN LECHE CRUDA PARA EL CONSUMO EN LA CIUDAD DE LOJA.

2. RESUMEN

La leche es el alimento puro más próximo a la perfección, es beneficiosa para las personas por su suplemento proteico proporcionando varias horas de alimentación y saciedad; el inconveniente se presenta cuando, por la utilización de antibióticos para restablecer la salud de los bovinos la leche estaría ocasionando alteraciones en el ser humano que ponen en peligro su salud. Por esta razón, la presente investigación pretende determinar la presencia de residuos antibióticos en leche cruda destinada para el consumo humano en la ciudad de Loja, constituyendo esté un posible problema a la salud de los consumidores. En el presente estudio de tipo descriptivo de corte transversal, se determinó la presencia de residuos de antibióticos en 68 muestras de leche cruda bovina procedente de 4 mercados de la ciudad: mercado Pequeño productor, Mercado Central, Mercado San Sebastián y Mercado Gran Colombia. Las muestras se analizaron en la Planta Piloto de Procesamiento de Lácteos de la Universidad Nacional de Loja, utilizando el método de unión a receptores, kit Trisensor recomendado en el Manual de procedimientos para la vigilancia y control de la inocuidad de leche cruda (Agrocalidad, 2013). Los resultados obtenidos indicaron que de las 68 muestras analizadas el 7% presentaron resultados positivos para residuos de antibióticos, específicamente para betalactámicos que procedían del mercado Gran Colombia; del mercado Central como del mercado pequeño productor procedían 1 muestra con residuos antibióticos. Estos resultados señalan que hay una población expuesta a estos contaminantes, pudiendo presentarse una resistencia a antibióticos (Aroca, 2016).

Palabras clave: residuos de antibióticos, leche cruda, método de unión a receptores.

SUMMARY

The milk is the pure food most next the perfection, is beneficial for the persons for his multifaceted supplement providing several hours of supply and satiety; the disadvantage appears when, for the utilization of antibiotics to restore the health of the bovine ones the milk would be causing alterations in the human being that they put in danger his health. For this reason, the present investigation tries to determine the presence of antibiotic residues in raw milk destined for the human consumption in Loja's city, constituting a possible problem is to the health of the consumers. In the present study of descriptive type of transverse court, there decided the presence of residues of antibiotics in 68 samples of raw milk bovine proceeding from 4 markets of the city: Small producing market, Mercado Central, Bought San Sebastian and Market Great Colombia. The samples were analyzed in the Pilot Plant of Processing of Lacteal of Loja's National University, using the method of union to recipients kit Trisensor recommended in the Manual of procedures for the vigilance and control of the innocuousness of raw milk (Agrocalidad, 2013). The obtained results indicated that of 68 analyzed samples 7 % presented positive results for residues of antibiotics, specifically for betalactámicos of were coming from the market Great Colombia; of the Central market since from the small producing market they were coming 1 sample with antibiotic residues. These results indicate that there is a population exposed to these pollutants, being able to appear a resistance to antibiotics (Aroca, 2016).

Key words: antibiotic residues, raw milk, method of union to recipients.

3. INTRODUCCIÓN

La leche es un líquido blanco, opaco, de sabor ligeramente azucarado y de olor poco acentuado (Ochoa, 2016). Es el alimento puro más próximo a la perfección; aporta al organismo su principal proteína, la caseína que puede ser beneficiosa para las personas que están buscando un suplemento proteico proporcionando varias horas de alimentación y saciedad; calcio para el crecimiento y fortalecimiento de los huesos y dientes; fósforo para el desarrollo de la memoria y el cuidado del cerebro; vitamina A para el crecimiento y la visión, vitamina D para la ayuda en los procesos de absorción del calcio; minerales como el magnesio, iodo, potasio y hierro como fuente de fuerza y vitalidad. (Lacturale, 2011).

La utilización de medicamentos para restablecer la salud de los bovinos, y el peligro de la comercialización de la leche con residuos de antibióticos para las personas que lo consumen, es un tema palpitante de salud pública, debido los problemas que ocasiona en el ser humano como alteración de la microbiota intestinal, estimulación de bacterias antibiótico-resistentes, desarrollo de microorganismos patógenos, reducción de la síntesis de vitaminas, se han dado casos en los que personas sensibles experimentan reacciones alérgicas pudiendo causar reacciones como prurito general, dificultad para tragar y hablar, disnea, dermatitis por contacto y urticaria. (Ortiz & Cazar, 2014).

El problema de los residuos de antibióticos en la leche es mundial, en China se halló que el 80% de las muestras de leche cruda de diferentes regiones del país fueron positivas a antibióticos. En Cuba, se determinó que 49,4 % de muestras fueron positivas para antibióticos. En Grecia se halló un 20,2 % de antibióticos en 336 muestras de leche. En Perú se encontró un 12 % de residuos de antibióticos en 5 rutas lecheras y posteriormente en el mismo país se

determinó que el 20,8 % de las muestras fueron positivas para antibióticos en leche fresca destinadas para el consumo humano, en la ciudad de México encontraron un 61 % de muestras positivas para la presencia de antibióticos. (Máttar, Calderón, Sotelo, Sierra, & Tordecilla, 2009).

En un estudio realizado en Ecuador en la ciudad de Cuenca en el 2014, los resultados obtenidos indicaron que, de 88 muestras de leche cruda, se obtuvieron 17 resultados positivos de residuos de antibióticos, lo que equivale al 19 % del total de las muestras de leche cruda.

El uso de antibióticos es una práctica frecuente para el control y prevención de enfermedades infecciosas en las ganaderías lecheras de nuestro medio; sin embargo en la gran mayoría de ocasiones, suelen utilizarse sin tener la asesoría de un profesional idóneo, por lo cual son utilizados de manera inadecuada, empleando subdosificación o sobredosificación, número de aplicaciones, duración del tratamiento y vías de administración incorrectas, los antibióticos comúnmente utilizados en el medio son los β-lactámicos y tetraciclinas por ser fáciles de adquirir, económicos, de amplio espectro de acción y conocidos por los ganaderos. (Barrera & Ortez, 2012).

El área de estudio de la presente investigación es la ciudad de Loja, ubicada al sur del país con un clima temperado-ecuatorial subhúmedo; organizada en 6 parroquias urbanas, y 13 parroquias rurales, su población económicamente activa está dedicada mayoritariamente a la agricultura y ganadería en un 19 %, ya que los valles lojanos son apropiados para la crianza de ganado vacuno siendo la población de este ganado una de las más altas en las provincias de la sierra. (Ochoa, 2016).

En la provincia de Loja diariamente se produce alrededor de 150000 litros de leche. Los cantones con mayor producción son Gonzanamá, Calvas, Quilanga, Saraguro y Loja,

especialmente en las parroquias de San Lucas, Yangana, Santiago, entre otras; a pesar de ser una zona ganadera no existe el tratamiento adecuado de este producto (Mercurio, 2014). La utilización de medicamentos para restablecer la salud de los bovinos, conlleva peligro en la comercialización de la leche ya que contiene residuos de antibióticos para las personas que lo consumen. (Ochoa, 2016).

Existe una falta de información sobre la cantidad de residuos antibióticos que podemos encontrar en este producto alimenticio, por tal motivo el presente estudio denominado "Determinación de la presencia de residuos antibióticos en leche cruda para el consumo en la ciudad de Loja", tuvo como objetivos establecer la presencia de sulfamidas, betalactámicos y tetraciclinas en la leche cruda de consumo mediante la prueba Kit TriSensor; y la frecuencia de estos residuos antibióticos en relación con el lugar de expendio (mercado) de la leche cruda.

Se determinó que el 7 % de las muestras de leche resultaron positivas para betalactámicos, mientras que no se encontraron casos positivos para la presencia de residuos de sulfamidas y tetraciclinas; constituyendo en un probable riesgo para la salud de las personas que la consumen por la posible resistencia bacteriana, las manifestaciones de toxicidad renal, hepática y sanguínea, ototoxicidad, problemas medulares, efectos teratogénicos, carcinogénicos y alergias súbitas graves, y a las reacciones alérgicas retardadas. (BIOMOT, 2016).

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. LECHE

4.1.1. Definición:

La leche es un producto universal de origen animal que por su alto valor nutritivo y alto grado de digestibilidad es de suma importancia en la alimentación humana (Peñafiel, 2008), siendo un líquido muy complejo producido solamente por las hembras mamíferas. El principal propósito de la leche es el de proveer de nutrientes y de protección a los animales lactantes, hasta que sean capaces de consumir alimentos sólidos (Alvarado, 2012), mediante el cual se transmite inmunidad y defensas a los recién nacidos. (Molina, 2015).

Desde un punto de vista biológico, se define a la leche como "un producto estéril que satisface los requerimientos nutritivos del lactante de la especie homóloga sin ningún tipo de contaminación física o química". (Alvarado, 2012).

A la leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no ha superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre (no más de 40°C) se la conoce como leche cruda. (INEN, 2012).

Distinguimos principalmente entre dos tipos de leche, las que provienen de los animales y las que son de tipo vegetal. Desde que nacemos, la leche es una parte muy importante de nuestra vida, primero la materna, después la de vaca y con el tiempo otros tipos de leches animales como la de cabra, oveja, búfalo, caballo, camello, yaks, renos y hasta burros, según la localización geográfica. (Gottau, 2014).

En nuestro medio llamamos “leche” a la procedente exclusivamente de la vaca, otros tipos de leche requieren que se cite su procedencia: de cabra, de oveja, etc. (Aranceta & Serra, 2005).

4.1.2. Composición de la leche

La leche se encuentra constituida por más de 10000 diferentes moléculas y cada una posee un papel diferente al proveer de nutrientes (energía, proteína, grasa, minerales y vitaminas) o protección inmune. La composición de la leche de las diferentes especies está designada para alcanzar determinadas necesidades del lactante de cada especie. (Alvarado, 2012).

La leche está compuesta por:

- ***Agua:*** El valor nutricional de la leche como un todo, es mayor que el valor individual de los nutrientes que la componen debido a su balance nutricional único. La cantidad de agua en la leche refleja ese balance. En todos los animales el agua es el nutriente requerido en mayor cantidad y la leche suministra una gran cantidad de agua, conteniendo aproximadamente el 90 % de la misma. La cantidad de agua en la leche es regulada por la lactosa que se sintetiza en las células secretoras de la glándula mamaria. El agua que va en la leche es transportada a la glándula mamaria por la corriente circulatoria. La producción de leche es afectada rápidamente por una disminución de agua y baja el mismo día que su suministro es limitado o no se encuentra disponible. (Agrobit, 2011).

- ***Proteínas:*** El contenido de proteínas depende fundamentalmente de la alimentación y oscila entre el 3 y 3.6%. Los componentes estructurales básicos de las proteínas son los aminoácidos. Frecuentemente se hace la clasificación de las proteínas de la leche en base a los componentes obtenidos por el método de separación una alta digestibilidad y valor biológico. (Serra, 2016).

- ***Materia Grasa:*** Está compuesto de una mezcla de triglicéridos que contiene más de diecisiete ácidos grasos y substancias asociadas tales como las vitaminas A, D, E y K, fosfolípidos como la cefalina y lecitina. De todos los componentes es la que más varía; oscila entre el 3.2 % y el 6 %; estas variaciones se deben principalmente a la selección realizada para obtener las distintas razas de vacuno. (Ochoa, 2016).

- ***Lactosa:*** Los glúcidos de la leche están compuestos esencialmente por la lactosa y algunos otros azúcares en pequeñas cantidades, como glucosa (0.1 %) y la galactosa. La lactosa es el carbohidrato característico de la leche (Ochoa, 2016), que se encuentra presente en niveles próximos a 45- 50 g/L. (Romero, 2004).
- ***Sales Minerales:*** Se conocen como sales minerales en la leche, los componentes de la leche que estén en forma de iones o que son ionizables (excepto iones hidroxílicos y los de hidrógeno). Se incluyen aparte de los iones de las sales orgánicas e inorgánicas, también las proteínas, ya que sus grupos ionizable pueden formar sales al unirse con los cationes. Las sustancias salinas se determinan generalmente a partir de las cenizas. El contenido en sales depende de: la raza, de la fase de lactación, del estado de salud y sobre todo del aporte mineral que contenga el alimento de las vacas. Los procesos infecciosos que afectan a las ubres producen alteraciones muy evidentes del contenido en sales de la leche. (Romero, 2004).
- ***Vitaminas:*** Las vitaminas en el ser humano y en los animales tienen la función de biocatalizador, indispensable para el mantenimiento y el incremento de la sustancia celular. El contenido de vitaminas de la leche cruda depende fundamentalmente de la alimentación y del estado de salud de los animales. Entre las principales vitaminas tenemos: vitamina A (retinol), provitamina (caroteno), vitamina D, E, K, ácido pantoténico, ácido fólico y nicotinamida (Ochoa, 2016), concretamente la leche aporta 0,19 mg de B2/100 ml. (Maza, y otros, 2011).

- ***Sólidos Totales y Sólidos no Grasos:*** El porcentaje promedio de sólidos totales es de 12.7 % representados por la grasa en emulsión, las proteínas es suspensión coloidal, lactosa, vitaminas, sales y otros componentes orgánicos e inorgánicos en solución. Los componentes sólidos no grasos representan en promedio 8.7 %. (Ochoa, 2016).

4.1.3. Calidad de la leche:

La calidad de la leche es el conjunto de propiedades que afectan directa o indirectamente el nivel de aceptación, seguridad y demanda del producto. Los indicadores de calidad se refieren fundamentalmente a la composición, contenido y tipo de bacterias, presencia de células somáticas y residuos químicos o medicamentos, propiedades organolépticas. (Alvarado, 2012).

Desde el momento del ordeño hasta que llega al consumidor, la calidad de la leche concierne a muchos participantes y aunque las especificaciones de calidad varíen entre cada uno de estos, básicamente preocupan las de tipo nutricional, sanitario y organoléptico, mismas que dependen de factores genéticos, alimentarios, del medio ambiente, de la salud de los animales, de la higiene del ordeño y manejo de la leche, así como de su proceso, entre otros factores. (Maza, y otros, 2011).

Cualquier método que no implique el rápido enfriamiento de la leche entre 4-6ºC en las dos primeras horas de ser obtenida ocasiona en menor o mayor medida, algún grado de deterioro de su calidad. (Alvarado, 2012).

4.1.4. Propiedades:

Todas las propiedades de la leche están determinadas por sus constituyentes, por lo que cualquier proceso y operación que altere a estos se refleja en ella. (Abril & Pillco, 2013).

- ***Propiedades Generales:***

La leche fresca de vaca debe presentar aspecto normal, estar limpia y libre de calostro, preservadores, antibióticos, colorantes, materias extrañas y sabores u olores objetables o extraños. Se obtiene de vacas acreditadas como sanas, libres de toda enfermedad infectocontagiosa tales como tuberculosis, brucelosis y mastitis. A partir del momento de obtención de la leche se someterá a filtración y enfriamiento inmediato a 4 °C, en el momento de la entrega podrá estar a una temperatura no mayor de 10° C. (Abril & Pillco, 2013).

- ***Propiedades Químicas:***

pH de la Leche: Según la legislación Ecuatoriana guiada por las normas INEN, nos habla que la leche es de característica cercana a la neutra. Su pH puede variar entre 6.5 y 6.65 (Instituto Ecuatoriano de Normalizacion, 2008).

Acidez de la Leche: Como dato referencial de las normas INEN, nos habla que una leche fresca, posee una acidez de 0.13 a 0.17 grados Dornic (°D); esta acidez se debe en un 40% a la anfotérica, otro 40% al aporte de la acidez de las sustancias minerales, CO2 disuelto y ácidos orgánicos; el 20% restante se debe a las reacciones secundarias de los fosfatos presentes (Instituto Ecuatoriano de Normalizacion, 2008)

- ***Propiedades Físicas:***

Algunas propiedades físicas de la leche son: La leche de vaca tiene una densidad media de 1.032 g/l. Es una mezcla compleja y heterogénea compuesta por un sistema coloidal de tres fases (Instituto Ecuatoriano de Normalizacion, 2008):

Solución: Los minerales, así como los hidratos de carbono se encuentran disueltos en el agua.

Suspensión*:* Las sustancias proteicas se encuentran con el agua en suspensión.

Emulsión: La grasa en agua se presenta como emulsión.

- ***Propiedades organolépticas:*** Según Abril y Pilco (2013) las propiedades organolépticas de la leche se catalogan en:

Sabor: La leche fresca normal tiene un sabor ligeramente dulce debido principalmente a su alto contenido de lactosa.

Olor: debe ser a leche fresca puede haber presencia de sustancias extrañas o posible acidificación cuando se encuentra espesa o cortada. La leche recién ordeñada tiene un olor característico, que desaparece rápidamente con la manipulación y adquiere el olor de los recipientes que la contiene.

Color: es un líquido blanquecino amarillento y opaco, color característico que se debe principalmente a la dispersión de la luz por las micelas de fosfocaseinato de calcio. El caroteno y la Riboflavina contribuyen al color amarillento.

Viscosidad: dada por el grado de resistencia a fluir, debido al coeficiente de frotamiento entre las moléculas. La viscosidad aumenta con la disminución de la temperatura, el incremento del contenido graso, la homogenización, fermentación, envejecimiento y altas temperaturas seguidas de enfriamiento.

4.2. ANTIBIÓTICOS

4.2.1. Definición:

Etimológicamente viene del griego anti “contra” y bios “vida”. (Morán, 2014).

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por varias especies de microorganismos que suprimen el crecimiento de otros microorganismos, y originan su destrucción (Ortiz & Cazar, 2014), constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámica, ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función del microorganismo, tienen elevada potencia biológica actuando a bajas concentraciones. (Seija, 2016). Una de las propiedades más importantes de los antibióticos es la toxicidad selectiva: la toxicidad hacia los organismos invasores es superior a la toxicidad frente a los huéspedes (los animales o las personas). (Morán, 2014).

4.2.2. Resistencia a antibióticos:

La resistencia a los antibióticos se produce cuando las bacterias mutan en respuesta al uso de estos fármacos. Son las bacterias, y no los seres humanos ni los animales, las que se vuelven resistentes a los antibióticos. (Organizacion Mundial de La Salud, 2017). Los organismos resistentes (bacterias, hongos, virus y algunos parásitos) pueden resistir ataques de medicamentos antimicrobianos de tal forma que los tratamientos convencionales se vuelven ineficaces y las infecciones persisten, lo que incrementa el riesgo de propagación. (Subirats, 2017). La base del desarrollo de las resistencias está en la selección de cepas resistentes. El antibiótico no induce resistencia, solamente selecciona. Es una interferencia en el proceso de selección natural. Donde antes se seleccionaban las bacterias más aptas para la supervivencia en el sitio del organismo de que se trate, en presencia del antibacteriano, sobrevivirán solamente aquellas variantes capaces de resistir a las concentraciones de

antibiótico presentes en ese lugar. El antibiótico se convierte en el primer factor de selección. (Morán, 2014).

La resistencia a los antibióticos hace que se incrementen los costos médicos, que se prolonguen las estancias hospitalarias y que aumente la mortalidad. Es necesario que se cambie urgentemente la forma de prescribir y utilizar los antibióticos. Aunque se desarrollen nuevos medicamentos, si no se modifican los comportamientos actuales, la resistencia a los antibióticos seguirá representando una grave amenaza. Los cambios de comportamiento también deben incluir medidas destinadas a reducir la propagación de las infecciones, a través de la vacunación, el lavado de las manos, la seguridad de las relaciones sexuales y una buena higiene alimentaria. (Organizacion Mundial de La Salud, 2017).

Las bacterias adquieren su resistencia, primeramente tras una mutación que permite que algún mecanismo bacteriano cambie lo suficiente para que el antibiótico no pueda actuar. Sobre esta mutación actúa luego la selección ejercida por el antibiótico. Posteriormente, y de manera aún más importante, nos encontramos con la transferencia de material genético de unas bacterias a otras. Las bacterias son capaces de pasarse parte de su material genético de unas a otras y eso es lo que hacen con estas mutaciones que le confieren resistencia. (Morán, 2014).

4.2.3. Clasificación:

4.2.3.1.Según su efecto: de acuerdo a la interacción germen-antibiótico:

Bactericidas: su acción es letal (Seija, 2016), consiste en producir la muerte del microorganismo sensible. Los antimicrobianos bacterianos actúan en la fase de crecimiento logarítmico bacteriano. Deben administrarse en infecciones graves, cuando se necesita la muerte rápida de los microorganismos para controlar la infección, y cuando no se cuenta con un

sistema inmune adecuado para detener el proceso infeccioso. Estos son (Agrovet, 2016):

- Beta-lactámicos (Penicilinas y cefalosporinas)
- Glicopéptidos (Vancomicina, teicoplanina)
- Aminoglucósidos
- Quinolonas
- Polimixinas.

***Bacteriostáticos*:** consiste en producir la inhibición del crecimiento bacteriano (Agrovet, 2016), las concentraciones que alcanzan en el suero o tejidos impiden el desarrollo y multiplicación bacteriana, pero sin llegar a destruir las células. Estos son (Seija, 2016):

- Macrólidos
- Tetraciclinas
- Cloranfenicol
- Clindamicina,
- Lincomicina
- Sulfamidas.

4.2.3.2.Según su espectro de acción:

Antibióticos de amplio espectro: aquellos antibióticos que son activos sobre un amplio número de especies y géneros diferentes. Por ejemplo: tetraciclinas, cloranfenicol. (Seija, 2016).

Antibióticos de espectro limitado: Actúan sólo contra cocos grampositivos y gramnegativos, bacilos grampositivos y espiroquetas. Ejemplo: penicilina. (Agrovet, 2016).

Antibióticos de espectro reducido: antibióticos solo activos sobre un grupo reducido de especies. (Seija, 2016).

4.2.3.3.Según su mecanismo de acción: Es el mecanismo por el cual un antibiótico es capaz de inhibir el crecimiento o destruir una célula bacteriana. Se dividen en (Seija, 2016***)***:

- Inhibidores de la formación de la pared bacteriana
- Inhibidores de la síntesis proteica
- Inhibidores de la duplicación del ADN
- Inhibidores de la membrana citoplásmica
- Inhibidores de vías metabólicas.

4.2.4. Betalactámicos:

Los betalactámicos actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, son compuestos de acción bactericida lenta, relativamente independiente de la concentración plasmática, con escasa toxicidad y poseen un amplio margen terapéutico. (Gudiol, 2013).

Constituyen la familia más numerosa de antimicrobianos y la más utilizada en la práctica clínica. Su espectro se ha ido ampliando a lo largo de los años por la incorporación de nuevas moléculas con mayor actividad frente a los bacilos gramnegativos; pero la progresiva aparición de resistencias adquiridas ha limitado su uso empírico y su eficacia en determinadas situaciones. (Seija, 2016).

Los betalactámicos poseen una concentración menor del 20% en leche de la que tienen en el plasma y su concentración residual es baja debido a su rápida eliminación. Éstos pueden antagonizar el efecto de la acción bacteriostática de amino glucósidos, cloranfenicol, eritromicina y tetraciclinas. (Martinez, 2009).

Se pueden clasificar en cuatro grupos diferentes: penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenemes.

Penicilinas: Son un grupo de antibióticos de origen natural y semisintético que contienen el

núcleo de ácido 6-aminopenicilánico, que consiste en un anillo betalactámico unido a un anillo tiazolidínico. Los compuestos de origen natural son producidos por diferentes especies de *Penicillum spp*. Las penicilinas difieren unas de otras por sustituciones en la posición 6 del anillo, donde cambios en la cadena lateral pueden inducir modificaciones en la actividad antibacteriana y en las propiedades farmacocinéticas. De acuerdo a su origen y espectro de acción pueden clasificarse en (Seija, 2016):

- Penicilinas naturales (G y V),
- Penicilinas resistentes a las penicilinasas estafilocócicas (oxacilina, meticilina, dicloxacilina),
- Aminopenicilinas (ampicilina, amoxicilina),
- Carboxipenicilinas (carbenicilina, ticarcilina),
- Ureidopenicilinas (piperacilina)

Cefalosporinas: Son productos de origen natural derivados de productos de la fermentación del Cephalosporium acremonium. Contienen un núcleo constituido por ácido 7-aminocefalosporánico formado por un anillo betalactámico unido a un anillo de dihidrotiazino. Modificaciones en la posición 7 del ácido 7-aminocefalosporánico están asociadas con la alteración en su actividad antibacteriana y sustituciones en la posición 3 están asociadas a alteraciones en la farmacocinética y en los parámetros metabólicos del agente. (Seija, 2016). Las cefalosporinas pueden llegar a matar a las bacterias susceptibles y aunque su mecanismo de acción aún no se conoce completamente, existen conocimientos que permiten conocer el fenómeno básico. Se definen cuatro generaciones de cefalosporinas (Zamora, 2016):

- **1ra. generación:**
  - Cefazolina
  - Cefalotina
  - Cefaloridina
  - Cefapirina

- Cefadroxil
- Cefalexina
- Cefadrina
- Cefatrizina

- **2da. generación:**
  - Cefuroxima
  - Cefamandol
  - Cefonicid
  - Ceforamida
  - Moxalactan
  - Cefuroxima
  - Cefaclor
  - Cefprozil
  - Cefotiam
  - Cefamicinas
  - Cefoxitina
  - Cefmetazol
  - Cefminox
  - Cefotetan

- **3ra. generación:**
  - Cefotaxima
  - Ceftazidime
  - Ceftizoxime
  - Cefoperazona
  - Ceftriaxone
  - Cefpirome
  - Cefixime,
  - Cefetamet,
  - Proxetil-cefpodoxima
  - Ceftibuten,
  - Cefdinir,
  - Latamoxef,
  - Cefodizima
  - Cefmenoxima
  - Cefsulodina

- **4ta. generación:**
  - Cefepime
  - Cefaclidina
  - Cefoselis
  - Cefelidina

Monobactámicos: constituyen un grupo poco utilizado de betalactámicos que inhiben la síntesis de peptidoglicano, impidiendo la formación de enlaces cruzados de la pared bacteriana. Son activos contra organismos gramnegativos y su único representante es el Aztreonam. (Zúñiga, 2017).

Carbapenemes: Los carbapenemes son los antimicrobianos betalactámicos de más amplio espectro, actividad y resistencia a las betalactamasas, incluidas BLEE. (Seija, 2016).

4.2.5. Tetraciclinas:

Las tetraciclinas inhiben la síntesis de proteínas y son bacteriostáticas para muchas bacterias grampositivas y gramnegativas. Actúan a nivel del ribosoma bacteriano, pero para que las mismas tengan acceso a éste es necesario su difusión pasiva por la membrana celular exterior a través de los poros hidrófilos, en el caso de la doxiciclina y la minociclina, que son más lipofílicas, pasan directamente por la doble capa de lípidos, pero en todos los casos se requiere de un segundo proceso dependiente de energía que transporta activamente todas las tetraciclinas a través de la membrana citoplasmática interna. Una vez en el interior de la célula bacteriana inhiben la síntesis de proteínas y se ligan a la subunidad 30S de los ribosomas, impiden el acceso del aminoacil RNAt al sitio aceptor del complejo RNAmribosoma, y esto tiene como consecuencia la no adición de aminoácidos a la cadena peptídica en crecimiento. (Rodríguez, y otros, 2008)

La oxitetraciclina es la tetraciclina más usada ya sea en presentación de larga acción o de acción intermedia. La farmacocinética de ésta varía de modo considerable pues existen diferentes vehículos y formulaciones en el mercado. La doxicilina alcanza cifras bactericidas

óptimas al administrarse vía parenteral con el efecto combinado de una tetraciclina amortiguada en infusión intramamaria. (Martinez, 2009).

4.2.6. Sulfonamidas:

Las sulfonamidas son un grupo de compuestos orgánicos sintéticos, que tienen una amplia actividad antibacteriana (actúan contra gérmenes gram positivos y negativos). Su núcleo base es el ácido p-aminobencen-sulfónico. Tienen efecto bacteriostático porque interfieren en la asimilación del ácido p-aminobenzoico, necesario para la producción del ácido fólico por las bacterias, lo que deprime la síntesis de ADN. Cuando se usan combinadas tienen efectos sinérgicos y su combinación con trimethopim es a menudo bactericida. (Peñafiel, 2008).

Estos compuestos se emplean en medicina veterinaria para el tratamiento de una amplia variedad de infecciones bacterianas y protozoarias en el vacuno, actúan como promotores de crecimiento. La presencia de los residuos de sulfonamidas en leche es una gran preocupación debido a sus características carcinogénicas, promueve la frecuencia de bacterias resistentes a los antibióticos, hecho que conduce a la ineficiencia de este medicamento con uso terapéutico. (Nagel, y otros, 2009).

4.3. RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS:

Los profesionales de la salud muchas veces están muy enfocados en el bienestar del hato lechero y se olvidan que la leche producida debe ser adecuada para el consumo humano. El consumo de leche contaminada con residuos de antibióticos es un problema de salud pública emergente a nivel mundial, de ahí la importancia del control de la presencia de residuos de antibióticos en los alimentos para evitar la aparición de resistencia a estos antibióticos en el ser humano. (Calle, Falcón, Salas, Pinto, & Espinoza, 2013).

Los antibióticos en relación con la leche, son sustancias empleadas en el tratamiento de enfermedades infecciosas del ganado, estos medicamentos producen residuos de antimicrobianos en la leche que pueden encontrarse por encima de los límites de seguridad establecidos en la legislación. (Agrocalidad, 2013).

Para la determinación de este parámetro se pueden usar kits de diagnóstico rápido cualitativos disponibles en el mercado y preferiblemente con aval de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC). (Agrocalidad, 2013).

Residuo es toda sustancia química o biológica que, al ser administrada o consumida por el animal se elimina y/o permanece como metabolito en la leche con efectos nocivos para el consumidor. (Ochoa, 2016).

Los residuos antibióticos se producen por el uso de productos químicos en la granja, entre los cuales se hallan residuos de medicamentos veterinarios, detergentes, desinfectantes, pesticidas y micotoxinas (Martinez, 2009), su presencia se debe a que muchas veces no existen controles sobre el manejo de dichos medicamentos ni orientación veterinaria respecto a los antibióticos a administrar de acuerdo con un análisis previo, dosis y tiempo de duración de un tratamiento. (BIOMOT, 2016).

Se usan para combatir enfermedades causadas por diversos microorganismos tales como la mastitis, la neumonía o infecciones de las patas. (Diaz, 2016).

La aplicación de tratamientos terapéuticos a base de antibióticos se convierte en un riesgo debido a que el fármaco administrado al animal se distribuye por todo el organismo y se elimina por las vías urinarias, heces y las glándulas mamarias durante algunos días o por el lapso de algunos ordeños dependiendo del tipo, la concentración y la dosis del fármaco utilizado; de esta manera se contamina el producto lácteo secretado por la glándula mamaria y éste debe ser eliminado durante el tiempo de retiro que se especifique en la etiqueta del fármaco utilizado. (Ortiz & Cazar, 2014).

En los mamíferos la leche es una vía natural de eliminación para estas sustancias y sus metabolitos durante un periodo variable de tiempo, depende tanto del animal tratado como del medicamento utilizado. (Abril & Pillco, 2013).

La razón por la cual se realiza un tratamiento al ganado vacuno con antibióticos es por la presencia de infección por mastitis, una enfermedad inflamatoria de la glándula mamaria. El objetivo del tratamiento es la eliminación del agente patógeno y la restauración de la funcionalidad del órgano. (Bascuñán, 2013).

Cuando se introduce un antibiótico en la ubre, éste se distribuye en el tejido mamario por los conductos galactóforos y es transferido al torrente sanguíneo por un mecanismo físico químico que depende del valor de pK del preparado, valor del pH del plasma sanguíneo, proteína ligada al antibiótico y valor de pH de la leche. Debido a esto, la reabsorción del producto es muy variable de acuerdo al preparado y al animal. De la dosis administrada a la glándula mamaria, una parte es absorbida pasando al torrente sanguíneo, otra es inactivada por

la leche y los productos generados por la infección y el resto, que es la mayor parte, es excretada a la leche durante los ordeños posteriores. (Ortiz & Cazar, 2014).

Existe una correlación negativa entre el tiempo de eliminación del antibiótico y el volumen de leche producido por el animal. Los animales de baja producción demoran en excretar el preparado, principalmente por la mala absorción y secreción de los cuartos afectados. El ordeño frecuente aumenta el efecto de dilución y por lo tanto acorta el tiempo de eliminación del antibiótico. (Ortiz & Cazar, 2014).

La enfermedad produce cuantiosas pérdidas económicas tanto para el productor debido a una menor producción de leche, reemplazo prematuro de vientres, costo de tratamientos y eliminación de leche contaminada con antibióticos como para la industria por menor calidad de la leche y subproductos. (Zaror, 2011).

Las pérdidas económicas que conciben la eliminación del producto durante el tiempo de retiro después de aplicar un fármaco son el mayor riesgo para el consumidor, hacen que se den las prácticas fraudulentas de mezclar la leche buena con la que contiene residuos de antibióticos y por falta de políticas de vigilancia y control, llegan a ser comercializadas y procesadas afectando la salud del consumidor. (Ortiz & Cazar, 2014).

De acuerdo a Bascuñán (2013) los mecanismos de acción de los antibióticos sobre las bacterias que producen la infección se describen básicamente tres grupos:

- **Grupo I:** con la Penicilina y sus derivados, que atacan a las bacterias en la actividad de sus membranas celulares, representado con productos como: Penicilina, Ampicilina, Cloxacilina etc., agrupados como Betalactámicos.

- **Grupo II:** antibióticos que actúan sobre las membranas citoplasmáticas: Polimixinas.

- **Grupo III**: antibióticos que actúan dentro de la célula, inhibiendo la capacidad de síntesis del ADN celular, agrupados como Macrolider con Eritromicina, Espiramicina y Tetraciclinas, etc.

4.3.1. Periodo de Retiro de antibióticos

Es el período de tiempo esperado para destinar la leche al consumo, desde el ultimo suministro de tratamiento al ganado en producción, con el objeto de que no existan residuos de medicamentos en el alimento. Estos períodos oscilan entre cuatro a seis días para los antibióticos más usados y es raro que se eliminen residuos de antibióticos por un período mayor que el tiempo de retiro declarado por el fabricante del fármaco. Sin embargo, se debe tener en cuenta las enfermedades en las cuales se disminuye significativamente la producción, el tiempo de retención de la droga en la ubre, enfermedades renales y hepáticas, y la administración de varias drogas simultáneamente. (Ochoa, 2016).

Los antibióticos aplicados parenteralmente son excretados más rápidamente por la leche, mientras que, con la aplicación intramamaria, los residuos son hallados por un período más largo y en concentraciones mucho más altas (BIOMOT, 2016). Debido a que los antibióticos de aplicación intramamaria son de fácil aplicación y más baratos, no se consulta al médico veterinario para aplicarlos, siendo más populares en las explotaciones lecheras y consecuentemente causa de aparición de residuos de antibióticos en la leche. (Abril & Pillco, 2013).

4.4. IMPORTANCIA EN LA SALUD PÚBLICA.

Los códigos de alimentos a nivel mundial, insisten que la leche y sus derivados deben ser libres de residuos inhibidores, principalmente de antibióticos debido a que cantidades mínimas en la leche o la carne representan un problema de salud pública que no debe ser aceptado, además de ser ilegal. (Diaz, 2016).

Los efectos tóxicos de los residuos antibióticos en la leche pueden agruparse en directos e indirectos. Los primeros son aquellos producidos al utilizar antibióticos en condiciones terapéuticas y se manifiestan con toxicidad renal, hepática y sanguínea, ototoxicidad, problemas medulares, efectos teratogénicos, carcinogénicos y alergias súbitas graves. Los efectos indirectos están asociados a los fenómenos de resistencia bacteriana y a las reacciones alérgicas retardadas. (BIOMOT, 2016).

Alrededor de 3 a 10% de la población humana tiene reacciones de hipersensibilidad a las penicilinas. Una cantidad baja como 0.01 UI/ml puede causar una reacción alérgica a una persona muy sensible, pero varía con el individuo y el tipo de alimento, pues éste puede afectar la absorción de la droga. Las penicilinas y tetraciclinas de amplio espectro erradican la flora normal y predisponen a la colonización y superinfección de especies oportunistas resistentes a los antibióticos. La tetraciclina en lactantes o niños en estado de desarrollo óseo y dentario acelerado determina alteraciones de estos sistemas por sus propiedades quelantes de calcio y la formación de un complejo tetraciclina-ortofosfato de calcio. Una característica temprana de este defecto es la fluorescencia amarilla en el pigmento dental, que luego es color marrón no fluorescente por oxidación del antibiótico acelerada por la luz. Cuando mayor es la dosis en relación al peso corporal más intensa es la decoloración del esmalte. (Martinez, 2009).

En base a la resistencia bacteriana, ésta podría ser originada por el consumo constante de leche con concentraciones bajas de antibióticos, los cuales suprimen el desarrollo de las bacterias más sensibles, facilitando la proliferación de las más resistentes. (Peñafiel, 2008)

Existen casos de tratamiento clínicos con experiencia en un individuo que generan expectativas de curación y sin embargo no causan ningún efecto sobre el paciente por el fenómeno de la resistencia a los medicamentos de microorganismos patógenos de los animales al hombre. Muchos microorganismos patógenos como por ejemplo la Salmonella, adquieren resistencia múltiple al ser sometidos a bajas concentraciones de antibióticos, lo cual representa un serio peligro potencial para el ser humano. (Ortiz & Cazar, 2014).

En 1993, en el congreso sobre *H. pylori*, se aceptó que la bacteria efectivamente genera gastritis crónica y la aceptación de la etiología infecciosa de la gastritis dio inicio a una nueva forma de tratar el padecimiento: con antibióticos. A partir de entonces, se comenzó a recomendar este tipo de tratamientos sin embargo gran parte de los casos resultó un fracaso completo debido a la gran resistencia de la bacteria a los antibióticos. Buscando la explicación de tal fracaso se descubrió que la resistencia de la bacteria al tratamiento puede ser producida por los antibióticos residuales en la leche bovina, al determinarse niveles de antibiótico superiores a los aceptados para el consumo humano. (Peñafiel, 2008).

4.4.1. Fármacos implicados en reacciones adversas en humanos (Peñafiel, 2008)*:*

- **Penicilina:** La mayoría de los reportes relacionados con casos de sensibilidad se deben a la penicilina y su fuente de residuos es la leche de vacas tratadas con infusiones intramamarias.
- **Cloranfenicol**: El cloranfenicol produce en las personas anemia aplástica con cantidades muy pequeñas. Por esta razón se ha prohibido su uso en animales de consumo humano.

- **Sulfametazina:** Este medicamento produce por toxicidad crónica, un adenocarcinoma tiroideo en ratas.
- **Aminoglucósidos (estreptomicina, kanamicina, gentamicina):** Los posibles efectos adversos por residuos de aminoglucósidos se limitan a la flora gastrointestinal (resistencia bacteriana), debido a la poca capacidad de absorción.
- **Tetraciclinas:** Las tetraciclinas están relacionadas con problemas de osificación y dentición en niños en crecimiento y pueden inducir resistencia bacteriana.

4.4.2. Pruebas para determinación de residuos de antibióticos en leche.

Por muchos años la prueba estándar de uso regulatorio para la determinación de antibióticos ha sido la prueba del disco con *Bacillus stearothermophilus.* Los métodos actualmente se clasifican en métodos presuntivos y de confirmación. Los presuntivos tienen como objetivo detectar la presencia de uno o varios residuos de antibióticos en una muestra sospechosa y son: de inmunoensayo y microbiológicos de prueba receptor, en el que el analito se une al receptor, y es detectado por método colorimétrico. (Guerrero, y otros, 2009).

Los métodos microbiológicos de tamiz se basan en pruebas de inhibición del crecimiento de un microorganismo específico, emplean indicadores de pH, redox, bioluminiscencia, etc. Estos métodos aprovechan la capacidad de las bacterias de producir ácido, reducir colorantes o producir halos de inhibición en un medio de cultivo, por lo que el resultado se puede interpretar visualmente, entre ellos se encuentra el método enzimático Penzym y los inmunoenzimáticos ELISA o RIA, así como de unión a receptores proteicos, de gran desarrollo en la actualidad, entre ellos el método Rosa Charm, BetaStar, pruebas SNAP y TriSensor. (BIOMOT, 2016).

4.5. TRISENSOR TEST KIT:

Trisensor es un test rápido que permite la detección de residuos de betalactámicos, tetraciclinas y sulfamidas simultáneamente en una misma muestra de leche. El Trisensor es una prueba rápida en el formato de tira (dipstick) para la detección de más de 30 tipos de antibióticos en una sola prueba. (Pruebas Microbiológicas Rápidas, 2016).

4.5.1. Fundamento:

Los métodos de unión a receptores proteicos llamados coloquialmente “métodos rápidos”, son métodos que permiten analizar la presencia o no de antibióticos en la leche de una manera sencilla, rápida, confiable, de fácil interpretación de los resultados. Trisensor es un ensayo competitivo que involucra a dos receptores y anticuerpos monoclonales. El ensayo requiere el uso de dos componentes: El primero es un micro pozo que contiene cantidades predeterminadas de ambos receptores y anticuerpos ligados a partículas de oro. El segundo es una tira reactiva con líneas de captura específicos Al agregar una muestra de leche al reactivo del micro pozo, receptores y anticuerpos monoclonales se unen los analitos correspondientes si están presente durante los primeros 3-minutos de incubación a 40° C. Sumergimos la tira reactiva en el micro pozo leche, el flujo lateral hace que el líquido pase por las distintas zonas de captura. (Agrocalidad, 2013).

Para que la prueba sea válida, la línea roja de control tiene que ser visible al final de la segunda incubación. Las otras tres son las líneas de “prueba” específicas que se encuentran debajo de la línea de control. La línea para los antibióticos ß-lactámicos (penicilinas y cefalosporinas) está localizada debajo de la línea de sulfamidas mientras la línea de mide tetraciclinas se encuentra arriba. A continuación, cuando la tira indicadora se sumerge en la leche, el líquido comienza a correr verticalmente en la tira indicadora y pasa a través de las zonas

de captura. Cuando la muestra no contiene antibióticos, se produce un revelado de color en las líneas de captura específicas, indicando la ausencia de los analitos buscados en la muestra de leche. Por el contrario, la presencia de antibióticos en la muestra no provocará el surgimiento de la señal de color en las líneas de captura específicas. (Trisensor, 2013)

4.5.2. Materiales (Trisensor, 2013):

- Incubador
- Kit Trisensor
- Probeta

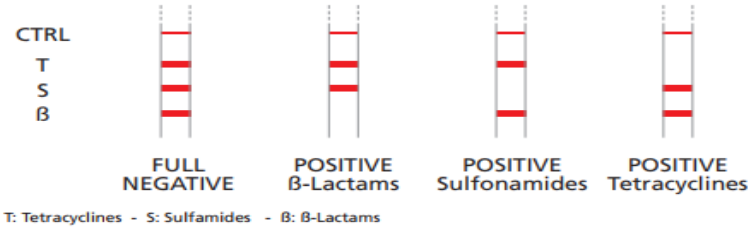
4.5.3. Procedimiento (Trisensor, 2013):

- Se recolecta la muestra en una proporción de 500 ml por cada 500 lt de leche
- Tomamos los pocillos reactivos necesarios.
- Desprendemos el capuchón
- Con la micro pipeta tomamos 200 µL de muestra de leche.
- Mezclamos en los pozos con los reactivos
- Colocamos en la incubadora a 40 °C durante 3 minutos
- Sumergimos la tira reactiva 3 minutos a 40 °C en el pozo previamente incubado.
- Al finalizar la incubación el incubador emitirá un sonido avisando que el tiempo de incubación ha concluido.

4.5.4. Resultados (Trisensor, 2013):

La prueba toma 6 minutos en correr y no requiere de preparación o limpieza de la muestra. Es capaz de detectar las 3 familias de antibióticos en concentraciones cercanas a su valor Residuo Límite Máximo (RLM).

Los resultados pueden ser interpretados en forma visual.



4.5.5. Sensibilidad: la podemos observar en la siguiente tabla:

Tabla 1: Límites de detección TRISENSOR

Betalactámicos (ppb)	Sulfonamidas (ppb)	Tetraciclinas (ppb)
PENICILINAS	Sulfadiazina 5-6	Tetraciclina 80-100
Penicilina-G 2-3	Sulfapiridina 0,5-1	Oxitetraciclina 50-60
Ampicilina 3-5	Sulfatiazol 4-8	Clortetraciclina 50-55
Amoxicilina 3-5	Sulfametoxazol 150-300	Doxycycline 20-30
Oxacillin 12-18	Sulfamethazine 1-1,5	
Cloxacillin 6-8	Sulfametoxipiridazina 1-3	
Dicloxacillin 6-8	Sulfadimetoxina 10-15	
Nafcillin 30-40	Sulfacetamida 300-600	
CEFALOSPORINAS	Sulfamerazina 1,5-2,5	
	Sulfamonometoxina 7-14	
Ceftiofur 10-15	Sulfaquinoxalina 15-30	
Cefquinoma 30-35	Sulfacloropiridazina 5-10	
Cefazolin 18-22	Sulfaguanidina 15-25	
Cefapirina 6-8	Sulfamethizole 75-100	
Cefacetrile 30-40	Sulfasalazina 250-350	
Cefoperazona 3-4		
Cefalexin 1000-1200		
Cefalonio 3-5		

Fuente: (Pruebas Microbiológicas Rápidas, 2016)

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Tipo de estudio:

El presente estudio es de tipo descriptivo de corte transversal.

5.2. Área de Estudio:

La investigación se realizó en muestras de leche cruda que ingresó a la ciudad de Loja para el consumo, zonas estratégicas para el muestreo fueron: el Mercado “Centro Comercial Loja” ubicado en la calle 18 de noviembre y 10 de agosto; el Mercado “Pequeño Productor Pitas II” ubicado en la calle Dr. Arturo Armijos Ayala; Mercado "San Sebastián" ubicado en la calle Bernardo Valdivieso y el Mercado “Gran Colombia” ubicado en la Av. Nueva Loja entre Tulcán y Ancón de la ciudad de Loja, provincia de Loja- Ecuador.

5.3. Universo:

Muestras de leche que ingresan a los mercados Centro Comercial Loja, Pequeño Productor Pitas II, San Sebastián y Gran Colombia de la ciudad de Loja durante el periodo noviembre-diciembre del 2017

5.4. Muestra:

El estudio se realizó en 68 muestras de leche cruda para el consumo que ingresaron a los mercados Centro Comercial Loja, Pequeño Productor Pitas II, San Sebastián y Gran Colombia de la ciudad de Loja durante el período noviembre – diciembre del 2017, mismas que cumplieron con los criterios de inclusión.

5.5. Criterios de Inclusión:

- Leche cruda obtenida en la jornada de la mañana.
- Leche cruda distribuida en los cuatro mercados seleccionados para el estudio.

5.6. Criterios de exclusión:

- Leche procesada
- Leche obtenida fuera del área de estudio

5.7. Métodos, técnicas y procedimientos:

5.7.1. Fase pre analítica

- Se solicitó autorización para el acceso y procesamiento de muestras en la planta piloto de lácteos de la Universidad Nacional de Loja; mediante un oficio dirigido al Dr. Tito Muñoz y autorizado por el encargado Ing. Ramiro Armijos (Anexo 1).
- Carta compromiso entre la Facultad Agropecuaria y de recursos naturales renovables, y la beneficiaria (Anexo 2)
- Protocolo para transporte de las muestras (Anexo 3).

5.7.2. Fase analítica:

- Determinación de la presencia de residuos de sulfamidas, Betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda (Anexo 4).
- Registro de los resultados obtenidos (Anexo 5)
- Fotografías (Anexo 6)
- Certificación de haber realizado el procesamiento de muestras (Anexo 7)

5.7.3. Fase post analítica

- Tabulación de los resultados obtenidos.

5.8. Plan de tabulación y análisis de resultados

Análisis de resultados expresados en frecuencia y porcentaje utilizando el programa Microsoft Excel.

6. RESULTADOS

Tabla 2.

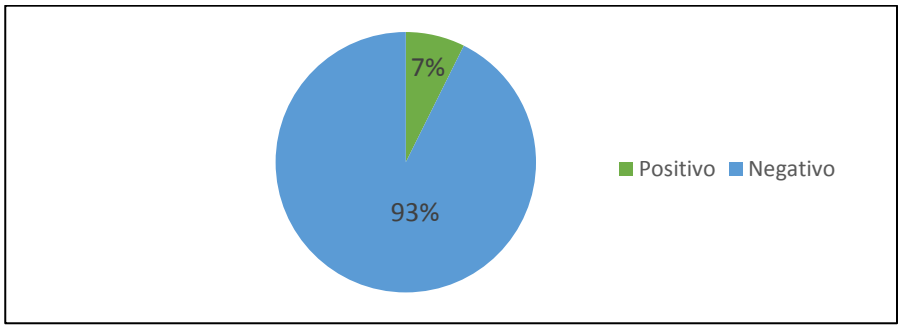
Presencia de residuos antibióticos en leche cruda para el consumo en la ciudad de Loja.

Resultado Obtenido	*Frecuencia*	*Porcentaje*
Positivo	5	7%
Negativo	63	93%
Total	68	100%

Fuente: *Registro de resultados obtenidos en el estudio*
Autora: *Jessica Elizabeth Torres Michay*

Figura 1.

Presencia de residuos antibióticos en leche cruda para el consumo en la ciudad de Loja.



Fuente*: Registro de resultados obtenidos en el estudio*
Autora: *Jessica Elizabeth Torres Michay*

Interpretación: De las 68 muestras recolectadas de los diferentes mercados de la ciudad de Loja, analizadas mediante la prueba Trisensor, se obtuvieron 5 muestras positivas equivalente al 7% mientras que 63 muestras son negativas equivalentes al 93% en cuanto se refiere a residuos antibióticos. Este resultado podría deberse a la presencia de un tratamiento veterinario con antibióticos en el periodo en el que se expendía las muestras de leche, aumentando la posibilidad de provocar un problema de salud en sus consumidores.

Tabla 3.

Presencia de sulfamidas, Betalactámicos y tetraciclinas en la leche cruda de consumo mediante la prueba Kit Trisensor.

Antibióticos	***Indicador***
Sulfamidas	Ausencia
Betalactámicos	Presencia
Tetraciclinas	Ausencia

Fuente*: Registro de resultados obtenidos en el estudio*
Autora: *Jessica Elizabeth Torres Michay*

Interpretación: Los resultados obtenidos demuestran que existe la presencia de residuos de betalactámicos en un 7%, mientras que no se encontró residuos de sulfamidas ni tetraciclinas. Estos resultados nos indican que el tratamiento de infecciones en el ganado, así como la aplicación de antibióticos por diferentes causas, se estaría focalizando actualmente en los antibióticos del grupo de los betalactámicos; hecho que podría relacionarse con la presencia de Mastitis, que es una complicación de carácter infeccioso por problemas higiénicos durante el ordeño. (Ortiz & Cazar, 2014)

Tabla 4.

Frecuencia de residuos antibióticos en relación con el lugar de expendio (mercado) de la leche cruda.

Indicador	***Lugar de expendio***								***TOTAL***	
	Mercado Pequeño productor		***Mercado San Sebastián***		***Mercado Central***		***Mercado Gran Colombia***			
	Frecuencia	**%**	**Frecuencia**	**%**	**Frecuencia**	**%**	**Frecuencia**	**%**	**Frecuencia**	**%**
Presencia de betalactámicos	1	1.5%	0	0%	1	1.5%	3	4.4%	5	7%

Fuente: *Registro de resultados obtenidos en el estudio*
Autora: *Jessica Elizabeth Torres Michay*

Interpretación: La presencia de residuos antibióticos afectó a 5 muestras provenientes de 4 mercados de expendio. De cada mercado se tomó un total de 17 muestras, en donde el mayor número de casos positivos se encontró en el Mercado Mayorista Gran Colombia en donde la presencia de residuos antibióticos se dio en 3 casos equivalente al 4.4 %. Este resultado nos muestra el riesgo al que se encuentran expuestos los consumidores de estos mercados, especialmente los que acuden al mercado mayorista Gran Colombia ya que este viene a ser el más concurrido por la localidad por su variedad de productos y su amplia infraestructura.

7. DISCUSIÓN:

Según el Instituto Ecuatoriano de Normalización, la leche que va destinada para el consumo humano no debe contener residuos de antibióticos; ya que su residualidad provocaría un problema de salud pública por los riesgos que presenta para el consumidor, sus efectos acumulativos se manifiestan en diversas formas como: toxicidad en riñón, hígado, sangre, médula, oído, efectos teratogénicos, carcinogénicos y alergias graves (Ochoa, 2016), y al consumir leche contaminada con residuos de antibióticos causaría en un futuro efectos asociados a los fenómenos de resistencia bacteriana y a las reacciones alérgicas. Además, los antibióticos presentes en la leche pueden inducir alteración de la microbiota, desarrollo de microorganismos patógenos y reducción de la síntesis de vitaminas. (BIOMOT, 2016).

En el presente estudio realizado mediante el método de unión a receptores Test TriSensor con el cual se identifica los grupos de antibióticos, tales como: sulfamidas, tetraciclinas y betalactámicos, se obtuvo como resultado el 7% de casos positivos para la presencia de antibióticos betalactámicos en la leche cruda y un 93% de casos negativos, lo que pone de manifiesto que en la ciudad de Loja se consume leche con residuos antibióticos.

En una investigación realizada por María Castro en la ciudad de Cuenca (2017), se tomaron 52 muestras de expendedores de la parroquia Victoria del Portete y 26 muestras en la parroquia Tarqui, mismas que fueron analizadas mediante la técnica Trisensor con niveles de sensibilidad iguales o inferiores a los límites permitidos; en donde se obtuvo como resultado 56 muestras positivas a residuos antibióticos. De las 56 muestras positivas; 35 muestras presentan residuos de betalactámicos y 21 muestras residuos de tetraciclinas, resultado que puede ser debido a que los procesos infecciosos en los bovinos en estas zonas están enfocados al tratamiento con el uso de estos antibióticos (Castro, 2017). Al igual que en la presente investigación el antibiótico que se

encontró con mayor frecuencia, aunque en una menor presencia fue el betalactámico con 5 muestras y en el caso de las tetraciclinas no se registraron casos. Este resultado puede deberse a que en nuestra ciudad el tratamiento de elección de la mastitis clínica causada por la mayoría de los estreptococos son los betalactámicos.

En el cantón Biblián de la provincia de Cañar, en el estudio de Maira Ortiz y María Cazar (2014), se analizaron 88 muestras de leche mediante los métodos de unión a receptores proteicos llamados coloquialmente "métodos rápidos, SNAP AFLA, Test Trisensor y Test Triaminosensor, en donde se presentaron 17 casos positivos a residuos antibióticos, lo que equivale a un 19% del total de las muestras de leche cruda; de las cuales 11 muestras presentan trazas de betalactámicos, 1 muestra presenta residuos de gentamicina y 5 muestras de antibiótico neomicina (Ortiz & Cazar, 2014). Comparando este resultado con el de nuestro estudio se puede evidenciar que en la investigación de Ortiz y Cazar se utilizaron tres métodos rápidos en una población mayor que en la presente investigación, corroborando que el antibiótico que se presenta en un mayor porcentaje es el betalactámico con un 7%, según los datos obtenidos en este estudio; resultado que puede deberse a que los comerciantes no respetan los tiempos de retiros de los antibióticos antes de su comercialización.

En la parroquia Chicaña del cantón Yantzaza de la provincia de Zamora Chinchipe, en un estudio realizado por Byron Ochoa Trelles (2016) en el que se analizaron 108 muestras mediante la prueba de diagnóstico rápido Trisensor y en donde se encontró 31 casos positivos equivalente al 28.70%, y 77 casos negativos que corresponde a un 71.30% en cuanto se refiere a residuos de antibióticos, en el cual el antibiótico con mayores casos positivos es la tetraciclina, con 19 casos, un porcentaje mayor en comparación al del presente estudio en donde no se encontraron casos positivos para residuos de tetraciclinas y en donde se utilizó el mismo método de detección. Este

resultado se puede atribuir a que en el cantón Yantzaza, existen factores como la temperatura y la humedad que provocan un incremento en los casos de mastitis y por consiguiente se incrementa el uso de antimicrobianos para su control (Noa, Gonzalez, Landeros, Reyes, & Noa, 2009), pudiendo inferir que el tratamiento está enfocado en concentraciones elevadas de tetraciclinas, a diferencia de nuestra ciudad en donde el tratamiento podría estar orientado en el uso de betalactámicos.

Otro estudio realizado en el Cantón Naranjal, Provincia del Guayas por Noemi Aroca (2016), en donde fueron analizadas 72 muestras de leche cruda obtenidas en 6 diferentes lugares de expendio del cantón Naranjal, de las cuales 14 muestras que equivale al 19,4% dieron resultados positivos a residuos antibióticos: 11 muestras para Betalactámicos y 3 muestras Sulfonamidas; utilizando para este estudio el método de unión a receptores “AuroFlowBTS Combo Strip Test” (Aroca, 2016). En este estudio se puede observar la similitud existente con nuestra investigación, en cuánto a la presencia de residuos de betalactámicos en un mayor porcentaje que otros antibióticos, a pesar de utilizar un test diferente al utilizado en el presente estudio.

Comparando con los estudios citados, se observa que el porcentaje de casos positivos en estas investigaciones representan resultados alarmantes en un numero de muestras diferente al de la presente investigación, aun cuando el método utilizado es el mismo.

8. CONCLUSIONES:

Las conclusiones obtenidas en la presente investigación son las siguientes:

- En el presente estudio se determinó la presencia de residuos antibióticos en la leche cruda destinada para el consumo humano en la ciudad de Loja.
- Se estableció la presencia de residuos de betalactámicos en 5 muestras y la ausencia de sulfamidas y tetraciclinas en las 68 muestras de leche cruda de consumo analizada mediante la prueba Kit TriSensor.
- La presencia de residuos antibióticos betalactámicos se dio en el mercado mayorista Gran Colombia, encontrándose 3 muestras de leche cruda con presencia de residuos antibióticos; mientras que en el mercado Central y mercado pequeño productor las Pitas solo se encontró 1 muestra por mercado con residuos antibióticos.

9. RECOMENDACIONES

- Para complementar la presente investigación se recomienda realizar estudios microbiológicos de la leche cruda para evaluar totalmente la calidad de este producto de consumo, en la ciudad de Loja
- Socializar a nivel de consumidores las consecuencias a la salud pública que ocasionan este tipo de contaminación en la leche.
- Evitar la informalidad en la compra de productos lácteos que no han pasado por su correspondiente registro sanitario.
- A futuros investigadores utilizar equipos que tenga capacidad de detección de más familias de antibióticos ya que en la actualidad existe una gama de productos veterinarios que se utilizan y que no fueron analizados en esta investigación y tampoco son controlados por el organismo de control y regulación.

10. BIBLIOGRAFÍA

Organizacion Mundial de La Salud. (2017). Resistencia a los antibióticos. Organizacion Mundial de la Salud, http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/es/.

Abril, A., & Pillco, V. (2013). Calidad fisicoquimica de la leche cruda que ingresa a la ciudad de Cuenca,para su comercializacion . Cuenca- Ecuador: Universidad de Cuenca. Obtenido de http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4825/1/TESIS.pdf

Agrobit. (2011). Composición de la leche y valor nutritivo. . http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/prod_lechera/GA000002pr.

Agrocalidad. (2013). Manual de procedimientos para la vigilancia y control de la inocuidad de leche cruda. Ministerio de Agricultura, Ganaderia, Acuacultura y Pesca. Obtenido de http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2016/08/Manual-de-Leche-DAJ-2013461-0201.0213.pdf

Agrovet. (2016). Antibióticos y Antimicrobianos. Agrovet Market Animal Health, Área de Investigación y Desarrollo, Investigación en Salud Animal. Obtenido de https://www.agrovetmarket.com/investigacion-salud-animal/pdf-download/antibioticos-y-antimicrobianos

Alvarado, Y. (2012). Evaluacion de los analisis fisicos- quimicos de la leche de los diferentes hatos bovinos del canton Daule. Obtenido de http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/953/1/Alvarado%20Tomala%20Yajaira218.pdf

Aranceta, B. J., & Serra, M. L. (2005). Leche, lácteos y salud. Madrid: Ed. Médica Panamericana.

Aroca, N. E. (2016). Detección cualitativa de residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en el cantón Naranjal, provincia del Guayas. Unidad Academica de ciencias Agropecuarias. Obtenido de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/7695/1/DE00048_TRABAJODETITULACION.pdf

Barrera, A., & Ortez, E. (2012). Determinación de residuos de antibióticos β-lactámicos y Tetraciclinas en leche cruda de cinco ganaderías ubicadas en el Municipio de San Luis Talpa y en leche pasteurizada. Universidad de El Salvador. Obtenido de http://ri.ues.edu.sv/2198/

Bascuñán, C. C. (2013). Mastitis bovina. Universidad de Chile.

BIOMOT. (2016). Obtenido de Residuos de antibióticos en leche: respetando al consumidor: http://www.actualidadganadera.com/biomont/articulos/Residuos-de-antibioticos-en-leche-respetando-al-consumidor.html

Calle, S., Falcón, N., Salas, P., Pinto, C., & Espinoza, J. (2013). Determinacion de residuos de antibioticos betalactamicos mediante un ensayo inmunenzimatico en leche de vacas tratadas contra mastitis. Revista de Investigacion Perú. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v24n2/a17v24n2.pdf

Calva, H. D. (2017). Deteccion de antibióticos en leches crudas en las fincas de la parroquia Cumbaratza que se expenden en Zamora chinchipe. universidad nacional de Loja, http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/18634/1/Herman%20Dalix%20Reyes%20Calva%20.pdf.

Castro, M. (2017). Determinacion de la presencia de antibiotico en leche cruda de bovino comercializada directamnete en las viviendas de las parroquias de Victoria del Portete y

Tarqui. Cuenca- Ecuador. Obtenido de http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/6672/1/12688.pdf

Codex Alimentarius. (2018). Normas Internacionales de los alimentos. Recuperado el 2018, de http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/maximum-residue-limits/es/

Diaz, D. E. (2016). Extension. Obtenido de http://articles.extension.org/pages/9858/uso-de-antibiticos-en-la-ganadera-lechera

Divier Antonio Agudelo Gómez, O. B. (2005). ComposiciÛn nutricional de la leche de ganado vacuno. Revista Lasallista de Investigacion , http://www.redalyc.org/pdf/695/69520107.pdf.

Gottau, G. (2014). Análisis nutricional de diferentes tipos de leche. Vitónica, https://www.vitonica.com/alimentos/analisis-nutricional-de-diferentes-tipos-de-leche.

Gudiol, M. M. (2013). Antibióticos betalactámicos. Barcelona. España: FORMACIÓN MÉDICA CONTINUADA.

Guerrero, D., Motta, R., Gamarra, G., Benavidez, E., Roque, M., & Salazar, M. (2009). Deteccion de residuos antibioticos betalactamicos y tetraciclinas en leche cruda comercializada en el Callao. Callao: Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNMSM. Obtenido de http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/ciencia/v12_n2/pdf/a05v12n2.pdf

INEN. (2012). Instituto Ecuatoriano De Normalización. Obtenido de http://www.inen.gob.ec/images/pdf/nte/9-5.pdf

Instituto Ecuatoriano de Normalizacion, I. (2008). Leche cruda. Requisitos. Quito- Ecuador: Norma Tecnica Ecuatoriana. Obtenido de http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/07/nte_inen_009_6r.pdf

L Zaror, K. V. (2011). Mastitis bovina por Prototheca zopfii: primer aislamiento en Chile. Archivos de medicina veterinaria, http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2011000200010&script=sci_arttext.

Lacturale. (2011). ¿Qué beneficios aporta la leche al organismo?. LACTURALE. Obtenido de http://www.lacturale.com/FAQSFicha.aspx?i=3&p=1

Martinez, D. E. (2009). Determinacion de resiudos de antibiotico betalactamicos y tetraciclinas en leche cruda en productores de coproleche. Guatemala: Universidad San Cralos de Guatemala.

Máttar, S., Calderón, A., Sotelo, D., Sierra, M., & Tordecilla, G. (2009). Detección de Antibióticos en Leches: Un Problema de Salud Pública. Revista de Salud Pública, vol. 11, núm. 4, agosto, 2009, pp. 579-590, http://www.redalyc.org/pdf/422/42217814009.pdf.

Maza, M., Perez, M., Legorreta, P., Moncada, A., Valdes, S., & Chavez, J. (2011). Libro blanco sobre la leche y los productos lácteos.

Mercurio, E. (17 de Octubre de 2014). 60 % del consumo de leche viene de otras provincias. Obtenido de http://www.elmercurio.com.ec/452158-60-del-consumo-de-leche-viene-de-otras-provincias/

Molina, M. A. (2015). DERIVADOS LACTEOS. Lima, Perú: Macro.

Morán, A. (2014). Antibióticos. DCiencia. Obtenido de http://www.dciencia.es/antibioticos/

Nagel, O., Zapata, M., Basilico, J., Gapel, C., Molina, P., & Althaus, R. (2009). Estudio del snergismo en sulfamidas en leche y trimetoprim en un bioensayo que utiliza Geobacillus Stearothermophilus. Revista FAVE - Ciencias Veterinarias.

Noa, E., Gonzalez, D., Landeros, P., Reyes, W., & Noa, M. (2009). EVALUACIÓN DE LA Presencia de residuos de antibioticos y quimioterapeuticos en leche en Jalisco, Mexico. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2009000100006

Ochoa, B. F. (2016). Deteccion de residuos de antibioticos en leche cruda fluida en la parroquia chicaña del canton yantzaza de la provincia de Zamora Chinchipe. Loja. Obtenido de http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17157/1/Byron%20Fabi%C3%A1n%20Ochoa%20Trelles.pdf

OMS, O. M. (Octubre de 2016). Resistencia a los antibióticos. Obtenido de http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/es/

Organizacion de las Naciones Unidas para la alimentacion y la agricultura, F. (2017). Leche y productos lacteos. Obtenido de http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/es/#.WRxwbWjhDIU

Ortiz, M., & Cazar, M. (2014). Deteccion de la presencia de Aflatoxina M1 y antibioticos en leche cruda de las fincas de mayor produccion del canton Biblian. Cuenca: Universidad del Azuay. Obtenido de http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/3341/1/10109.pdf

Peñafiel, C. A. (2008). Determinacion de residuos de antibioticos y sulfonamidas en seis marcas comerciales de leche de mayor consumo en la ciudad de Riobamba. Riobamba- Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Pruebas Microbiológicas Rápidas. (2016). TriSensor. Obtenido de http://www.pmr.mx/portfolio/trisensor/

Rivas, C. S. (2006). ¿Antibióticos, ayer, hoy y mañana…? Departamento de Química Biológica., http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v5n2/sanchez.htm.

Rodríguez, D. M., Rodríguez, D. J., Piñera, D. J., Alonso, D. N., Areu, D. A., & Pardo, D. A. (2008). Tetraciclinas. http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act11198.htm.

Romero, R. d. (2004). Productos lácteos: tecnología. Catalunya. Obtenido de https://books.google.com.ec/books?id=HUugK6Ep_JkC&pg=PA19&dq=LACTEOS&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiGvJmUh8nXAhUOzmMKHZ2ZACcQ6AEIPjAF#v=onepage&q=LACTEOS&f=false

Salim Máttar, A. C. (2008). Detección de Antibióticos en Leches: Un Problema de Salud Pública. Revista de Salud pública. Obtenido de Recuperado de: http://www.scielosp.org/pdf/rsap/v11n4/v11n4a09

Seija, R. V. (2016). Principales grupos de Antibióticos. Temas de bacteriologia y virologia medica.

Serra, B. B. (2016). Libro blanco de los lácteos. Madrid: http://www.lacteosinsustituibles.es/p/archivos/pdf/LibroBlanco.pdf.

Subirats, M. (2017). Resistencia antibióticos. Viajar Seguro, http://fundacionio.org/viajar/enfermedades/resistencia%20antibioticos.html.

Trisensor. (2013). Prueba rápida para la detección de ß-lactamicos, sulfamidas y tetraciclinas en leche. Belgium.

Zamora, R. (2016). Cefalosporinas. http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act05198.pdf. Recuperado el Noviembre de 2017

Zaror, V. K. (2011). Mastitis bovina por Prototheca zopfii: primer aislamiento en Chile. Archivos de medicina veterinaria. Obtenido de

http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2011000200010&script=sci_arttext

Zúñiga, M. F. (2017). Guía APS. Atención Primaria en Salud. Mexico: Universidad Anahuac Mexico.

11. ANEXOS

Anexo 1: Autorización para el procesamiento de muestras

Loja, 29 de noviembre del 2017

Dr. Tito Muñoz

DECANO DE LA FACULTAD DE AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

De mis consideraciones:

Yo, JESSICA ELIZABETH TORRES MICHAY con CI. 1106049842, estudiante del VIII ciclo de la carrera de laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja; me dirijo a usted muy comedidamente con la finalidad de solicitarle se me permita hacer uso de los equipos de la planta piloto de procesamiento de lácteos de la universidad Nacional de Loja para realizar el análisis y procesamiento de muestras con la finalidad de llevar a cabo mi proyecto d tesis denominado **"Determinación de la presencia de residuos de Antibióticos en leche cruda para el consumo en la ciudad de Loja"**, las muestras serán tomadas de diferentes mercados de la ciudad de Loja, pero requiero procesarlas en sus instalaciones debido a que cuenta con los equipos que solicito; debo mencionar que todos los reactivos y materiales serán adquiridos por mi persona.

El periodo que solicito para la realización de esta actividad comprende a partir del 31 de noviembre hasta el 29 de diciembre del presente año.

Por la atención brindad y segura de contar con su colaboración de antemano le expreso mis más sinceros agradecimientos, deseándole existo en sus labores.

Muy atentamente

Jessica Elizabeth Torres
CI: 1106049842

Autorizado
28/11/2017

Anexo 2: Carta compromiso

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD AGROPECUARÍA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
COORDINACIÓN ADMINISTRATIVA FINANCIERA

CARTA COMPROMISO ENTRE LA FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES Y LA SEÑORITA JESSICA ELIZABETH TORRES MICHAY, ESTUDIANTE DEL CICLO VIII DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLINICO DE LA FACULTAD DE SALUD HUMANA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA, PARA USO EXCLUSIVO DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE LA FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES, CON LA FINALIDAD DE REALIZAR LOS ANALISIS DE MUESTRAS CORRESPONDIENTES AL PROYECTO DE TESIS "DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS EN LECHE CRUDA PARA EL CONSUMO EN LA CIUDAD DE LOJA"

COMPARECIENTES
Comparecen a la suscripción de la presente Carta Compromiso, por una parte la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja, representado por su Decano Dr. Tito Muñoz Guarnizo Mg. Sc, quien en adelante para los efectos jurídicos del presente instrumento se denominará **FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**; y, por otra parte la **SEÑORITA JESSICA ELIZABETH TORRES MICHAY, ESTUDIANTE DEL CICLO VIII DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLINICO DE LA FACULTAD DE SALUD HUMANA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA,** quien en adelante y para efectos de la presente se le denominará **BENEFICIARIA**. las partes de mutuo acuerdo convienen en celebrar la presente Carta Compromiso, al tenor de las siguientes cláusulas:

CONSIDERANDO

1. Que la Universidad Nacional de Loja, es una Institución de Educación Superior, laica, autonoma, de derecho público con personería jurídica y sin fines de lucro, de alta calidad academica y humanística; que realiza investigación científico-técnica sobre problemas del entorno, con calidad, pertinencia y equidad, a fin de coadyuvar al desarrollo sustentable de la region y del país, interactuando con la comunidad, generando propuestas alternativas a los problemas nacionales, con responsabilidad social, reconociendo y promoviendo la diversidad cultural y étnica y la sabiduría popular, apoyándose en el avance cientifico y tecnológico, en procura de mejorar la calidad de vida del pueblo ecuatoriano.
2. Que entre los objetivos de la Universidad Nacional de Loja está la formación de profesionales en las diferentes Carreras, cuyo objetivo se fundamenta en la contribución al desarrollo de la sociedad mediante la formación de profesionales en diversos campos y la biodiversidad, capaces de dar respuestas efectivas y eficientes a los múltiples problemas de la realidad agropecuaria, basados en conocimientos científicos, técnicos, económicos, sociales y altos valores humanistas, éticos y morales.
3. La Universidad Nacional de Loja, ha estructurado Facultades Académico Administrativas para su desarrollo, lo que permite viabilizar sus funciones y campos de acción. Entre ellas se encuentra la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, la cual cuenta con carreras, programas, proyectos, laboratorios, escenarios experimentales entre otros, para la formación de estudiantes en el ámbito agropecuario.

CLÁUSULAS

PRIMERA: MARCO LEGAL
Que, el Art. 356 de la Constitución de la República, entre otros principios establece que será gratuita la educación superior pública de tercer nivel, y que esta gratuidad está vinculada con la responsabilidad académica de las estudiantes y los estudiantes;

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD AGROPECUARÍA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
COORDINACIÓN ADMINISTRATIVA FINANCIERA

El Art. 80, literales e) y f) de la Ley Orgánica de Educación Superior señalan que la gratuidad cubrirá exclusivamente los rubros relacionados con la primera matrícula y la escolaridad; es decir, los vinculados al conjunto de materias o créditos que un estudiante regular debe aprobar para acceder al título terminal de la respectiva carrera o programa académico: así como los derechos y otros rubros requeridos para la elaboración, calificación, y aprobación de tesis de grado; prohibiendo el cobro de rubros por utilización de laboratorios, bibliotecas, acceso a servicios informáticos e idiomas utilización de bienes y otros correspondientes a la escolaridad de los y las estudiantes universitarios y politécnicos.

SEGUNDA: OBJETIVO DE LA CARTA COMPROMISO

La presente Carta Compromiso tiene como objetivo autorizar el uso de la Planta de Lácteos perteneciente a la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja, para que la **SEÑORITA JESSICA ELIZABETH TORRES MICHAY, ESTUDIANTE DEL CICLO VIII DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLINICO DE LA FACULTAD DE SALUD HUMANA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**,, portadora de la cédula de ciudadanía Nº 1106049842, realice el análisis de las muestras, de su trabajo de tesis: **"DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS EN LECHE CRUDA PARA EL CONSUMO EN LA CIUDAD DE LOJA"**, previo a optar el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico.

TERCERA: COMPROMISOS DE LAS PARTES:

La Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, facilitará el uso de la Planta de Lácteos, en lo relacionado a instalaciones, equipos, accesorios, herramientas e insumos existentes para el análisis de muestras inherentes a su trabajo de tesis, garantizando la gratuidad de la educación superior; no se responsabiliza por accidente alguno de la beneficiaria por el inadecuado uso de los mismos.

La beneficiaria tendrá acceso a la Planta para realizar prácticas, servicios y/o visitas que así lo requiera y en los horarios establecidos para tal efecto.

La beneficiaria será admitida y permanecerá en el interior, sólo bajo supervisión del Técnico de la Planta.

La beneficiaria deberá cumplir con sus prácticas o trabajos respectivos, haciendo uso adecuado de las instalaciones, equipos, accesorios y herramientas de la Planta, demostrando buena conducta, utilizando y conservando el equipo de protección personal para su seguridad, así como mantener limpia su área de trabajo.

El uso de los equipos será exclusivamente para la realización de trabajos inherentes a su trabajo de Tesis.

La beneficiaria deberá acatar las disposiciones del Técnico de la Planta.

El control de los equipos en la Planta está asignado al Técnico de la Planta responsable. Sin embargo, la beneficiaria es la única responsable de cualquier desperfecto que sufran las instalaciones, equipos, accesorios y herramientas que se le haya proporcionado. En caso de daño causado por dolo o negligencia, la beneficiaria deberá repararlo o reponerlo.

Las pertenencias de la beneficiaria (mochilas, bolsas entre otras), deberán permanecer en el área establecida.

Cuando la usuaria pretenda ingresar con alguna herramienta, equipo o accesorio ajeno a la Planta, deberá informar previamente al técnico responsable para su conocimiento y registro.

De existir mejoras que se instalen por parte de la beneficiaria, estas quedarán para uso de la Planta.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD AGROPECUARÍA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
COORDINACIÓN ADMINISTRATIVA FINANCIERA

CUARTA: COORDINACIÓN Y EJECUCIÓN DE LA CARTA.-
La presente carta estará coordinada por parte de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, a través del Ing. Ramiro Armijos Cabrera, Técnico de la Planta de Lácteos y por la Beneficiaria.

QUINTA: PLAZO
La presente carta entra en vigencia desde el 1 de diciembre y culmina el 29 de diciembre de 2017, dentro de las horas de labores de la planta, de lunes a viernes de 07H30 a 16H00.
De considerar las partes necesario, la Carta Compromiso, puede ser renovada, mediante un Adendum, el que será suscrito por las partes.

SEXTA: TERMINACIÓN DE CONVENIO: La presente carta terminará por las siguientes causas:

- Incumplimiento de las obligaciones derivadas de la carta
- Incumplimiento del objeto de la carta
- Por terminación del plazo de la carta
- Por acuerdo de las partes; y,
- Por decisión de una de las partes, debiendo ésta notificar a la otra por escrito con quince días de anticipación.

SEPTIMA: NATURALEZA JURÍDICA DE LA RELACIÓN:
Se deja constancia que quien participa en la ejecución de la presente carta como beneficiaria, no contrae ninguna relación laboral o contractual entre las partes, y que la intervención del mismo no generará ningún tipo de relación laboral entre la institución y su persona.

OCTAVA: DEL SEGUIMIENTO
El seguimiento estará a cargo del Técnico de la Planta de Lácteos, quien informará sobre el uso del mismo por parte de la beneficiaria

NOVENA: CONTROVERSIAS
En caso de surgir controversias jurídicas por la vigencia y aplicación de este instrumento y que no puedan ser solucionadas de mutuo acuerdo, las partes se someten a los jueces competentes de la ciudad de Loja, de conformidad a las Normas de Derecho Público Ecuatoriano que sean aplicables.

DECIMA: DECLARACIÓN Y ACEPTACIÓN.-
Las partes que intervienen en la presente Carta Compromiso, expresan su compromiso de cumplir lo estipulado en todas las cláusulas precedentes y para constancia de su aceptación, firman en presente instrumento, en unidad de acto en cuatro ejemplares de igual tenor y validez, en la ciudad de Loja a los 30 días del mes de noviembre del año dos mil diecisiete.

Dr. Tito Muñoz Guarnizo, Mg. Sc.,
DECANO FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

Ing. Germania González B. Mg. Sc.,
COORDINADORA ADMINISTRATIVA FINANCIERA

Ing. Ramiro Armijos Cabrera
TÉCNICO DE LA PLANTA DE LÁCTEOS Y CÁRNICOS

Universidad Nacional de Loja
Quinta Experimental
"Punzara"
Plantas Piloto de Procesamiento de Lácteos y de Cárnicos

Srta. Jessica Elizabeth Torres Michay,
CI.1106049842

Anexo 3: Protocolo para transporte de las muestras

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Protocolo para transporte de las muestras

- Cuando se toma la muestra evitar las corrientes de aire, fumar, hablar mientras esté abierto el frasco.
- No tomar muestras de la parte superior o superficial del recipiente que contiene la leche cruda.
- La muestra será colectada en envases esterilizados o desinfectados, se recomiendan frascos de polietileno, polipropileno o de vidrio estéril.
- Las muestras recolectadas en estos envases, se deberán almacenar y transportar en un cooler o refrigerador a una temperatura comprendida entre 2° C y 8°C hasta el momento de su análisis en el laboratorio.
- La muestra así conservada podrá ser almacenada por 5 días desde la recepción, sin embargo, se recomienda que el análisis se lo realice a la brevedad posible.
- Se deberá mantener las muestras refrigeradas hasta la llegada al laboratorio. Las muestras no deben congelarse.
- Las muestras deberán ser selladas herméticamente y rotuladas.

Fuente: Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la calidad del Agro. Instructivo para toma de muestras de leche cruda. Páginas: 9-10 y 14. Ecuador. 2015

Anexo 4: Determinación de la presencia de residuos de sulfamidas, Betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda.

I. TEST RÁPIDO PARA DETECCIÓN DE BETALACTÁMICOS, SULFAMIDAS Y TETRACICLINAS EN LECHE

II. INSTRUCCIONES DE OPERACIÓN

Trisensor es una prueba rápida que le permite detectar simultáneamente la presencia de antibióticos de Betalactámicos, sulfamidas y tetraciclinas en leche

II. RESUMEN DEL PROTOCOLO

• Añadir 200 µl de leche; en un micropocillo para reacción y mezclar a homogeneidad.

• Incubar 3 mm a 40 ° C;

• Sumerja un dispositivo en cada micropocillo;

• Continuar incubando durante 3 min a 40 ° C;

• Leer las intensidades de color.

III. MECANISMO DE REACCIÓN:

Trisensor es una prueba competitiva que implica dos receptores y anticuerpos monoclonales genéricos en una sola operación. La prueba requiere el uso de dos componentes. El segundo componente es una concentración de cantidades predeterminadas tanto de receptores como de anticuerpos introducidos en las partículas de gel. El segundo es un dispositivo compuesto de un conjunto de membranas con líneas de captura específicas.

Para una prueba válida, la línea roja superior de control tiene que ser visible después de la segunda incubación (véase la Figura A). Las otras tres son las líneas de prueba específicas colocadas debajo de la línea de control. La línea para los antibióticos Betalactámicos (penicilinas y cefalosporinas) está situado por debajo de la línea de las sulfamidas, mientras que las

tetraciclinas se encuentran por encima de él. Cuando el reactivo de la micro placa se vuelve a suspender con una muestra de leche, tanto los receptores y los anticuerpos monoclonales se unen los analitos presentes durante la primera incubación de 3 minutos a 40° C. Después. cuando el dispositivo se sumerge en la leche, el líquido comienza a correr verticalmente en el dispositivo y pasa a través de las zonas de captura. Cuando la muestra está libre de antibióticos, se produce un desarrollo de color en las líneas de captura específicas, lo que indica la ausencia de antibióticos en la muestra ejemplo. Al contrario, la presencia de antibióticos en la muestra no hace que la señal coloreada aparezca en las líneas de captura específicas.

IV. COMPOSICIÓN DE LOS KITS

Trisensor Leche contiene todo lo necesario para realizar 96 mediciones.

• 12 vasijas cada una con 1 tira de 6 micropocillos reactivos y 6 tiras reactivas

• 1 Micropipeta de 200 ul;

• Estándar positivo, que contiene polvo para reconstruir el control positivo de Betalactámicos, sulfamidas y tetraciclinas en leche. Para la facilidad del reconocimiento, el control positivo es manchado por un tinte para dar un color rojo muy pálido.

• Estándar negativo, que contiene polvo para reconstruir el control negativo. Para la facilidad del reconocimiento, el control negativo es teñido por un tinte para dar el color verde muy pálido.

• Una hoja de instrucciones.

V. MATERIAL ADICIONAL NECESARIO

• 1 lector de sensor (Opcional, consulte el manual del sensor de lectura)

• 1 sensor de calor (40°C incubación, consulte el manual del sensor de calor usado)

VI. OBSERVACIONES GENERALES

1. De la lectura instrumental para la interpretación, La lectura del sensor puede ser cambiada antes del análisis (véase el manual de lectura de sensor);

2. El reactivo se debe almacenar en un lugar seco a una temperatura baja entre 2° C y 8° C. Antes de abrirlo deje que alcance la temperatura ambiente.

3. Los estándares se presentan en dos formatos, en tubos individuales de plástico y de vidrio

4. Evitar el uso de leche coagulada con Trisensor

5. La mejor temperatura para realizar el test es 40 ° C ± 3 °C. Utilice el sensor de calor o incubadora. Otro tipo de incubación no es apropiado para realizar el ensayo TriSensor

6. Después de la segunda incubación realice la lectura dentro de los 10 minutos. No intentes interpretar después de los 10 minutos.

7. Cuando se sequen las intensidades de color de las líneas se volverán más nítidas

8. Cuando se registra un resultado positivo, este resultado debe ser confirmado.

9. Vaciar un pocillo antes de llenar otro pocillo.

VII. DILUCIÓN DE LA LECHE EN POLVO

En una botella adecuada, mezclar 10 g de leche en polvo con 90 ml de agua caliente (40°C) y agua destilada. Para una dilución óptima, agitar vigorosamente

VIII. INSTRUCCIONES DE USO

Este procedimiento se describe para ejecutar una sola muestra o un conjunto de muchas muestras. En ese caso, trate de realizar la prueba en cascada y evitar cualquier retraso en la extracción de reactivo y la leche. Asegúrese de tener el mismo tiempo de incubación y temperatura para cada muestra. Se debe probar más de 8 muestras a la vez y, si hay más de 3 muestras, debe usar una multipipeta. Es recomendable compartir series de máximo 8 muestras.

1. Elija un lugar limpio para llevar a cabo el lavado y lave y seque las manos antes de comenzar
2. Conectar el sensor de calor (consulte el manual de uso del sensor de calor) y esperar hasta que la temperatura se haya estabilizado a 40 ° C. Se tarda como 10 minutos en estabilizarse la temperatura a 40°C.
3. Antes de abrir el reactivo, sacar el kit de la nevera y esperar a que los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente. Lea atentamente las instrucciones de uso.

   Hay dos componentes principales que se utilizan para la prueba son: varillas de medición y reactivos liofilizados en micro herramientas.
4. Determinar el número de muestras que se deben leer y escribir en el tubo un número de identificación.

   La muestra de leche debe ser líquida y homogénea. No puede haber ni coágulos ni fases de sedimentación. la temperatura ideal de la muestra de leche es entre 4°C y 20°C
5. Abrir una placa de plástico y sacar el mayor número posible de micro pocillos ya que hay muestra de leche para ser probado (el control positiva y negativa)

   Para abrir una placa, tomar de la forma segura presionando el anillo hacia abajo de la placa, quitar el anillo y sacar el tapón de la placa con el pulgar.

   La placa con vástagos de inmersión siempre debe estar bien cerrada después de retirar los reactivos.

   Se debe vaciar una placa con varillas de inmersión antes de abrir otra.

   Tenga cuidado, si no tiene la intención de usar en los 8 micropocillos, deje el conjunto de 8 tapas no utilizados y no se preocupe de la tira de las ocho tapas, pero dejarlo en las micro herramientas que no se utilizarán.

6. Coloque los micropocillos en el bloque que se usara a 40 ° C
7. Colocar una punta nueva en la micropipeta y transferir 200 µl de leche en cada uno de los micropocillos
8. ADVERTENCIA: cuando los reactivos y la leche están en contacto la reacción comienza, inmediatamente empujar el botón de la estrella (funcionamiento) y comienza la cuenta atrás de 3 minutos

   Durante la primera incubación, tanto los receptores como los anticuerpos monoclonales detectan si hay o no antibióticos en la muestra de leche. Se tarda 3 minutos en completarse la reacción
9. Durante ese tiempo, abrir la misma placa como antes, tomar tajadas como tantas varillas de análisis en curso y cerrar la placa. Coloque los dispositivos en una hoja limpia y anote el número que coincida con el de la muestra de leche.
10. Cuando los 3 minutos hayan terminado, después de la señal acústica, presione START (STOP) de nuevo para detener el tono de timbre y sumerja la varilla medidora correspondiente en cada uno de los micropocillos que se encuentran en la incubadora.

    Asegúrese de colocar en el micropocillo correspondiente la varilla de medición con el mismo número de identificación que el de la muestra de leche afectada.
11. Inicie el temporizador para la segunda incubación pulsando el botón START (RUN). Comienza la cuenta regresiva de 3 minutos.
12. Cuando los 3 minutos hayan terminado, después de la señal acústica, pulse de nuevo START (STOP) para detener el tono de llamada y sacar las varillas de impresión de los micropocillos para colocarlas sobre una hoja de papel.

13. Si no planea realizar ninguna otra prueba dentro del día con TriSensor, vuelva a colocar todo en la caja y guárdelo en una nevera a una temperatura que oscila entre 8 y 20°C

(Consulte el manual para los usuarios del sensor de calor, los pasos 9 a 12 son simplificados).

IX. INTERPRETACIÓN VISUAL DE RESULTADOS (ver Figura A)

Haga las lecturas visuales como sigue:

14. Comprobar si la línea de control superior está presente. Si no lo es, considere el análisis como inválido y no comience (o continúe) ninguna interpretación.
15. Cuando el control superior pueda ser visto, interprete las tres líneas como siguen.
16. Examinar una línea de prueba a la vez y comparar la intensidad del color de leche con la línea de control (comienza con la línea de betalactámicos, por ejemplo);

    -Si la línea de la prueba es de color más oscuro que la línea de control, el resultado es NEGATIVO, lo que significa que, dada la sensibilidad de nuestra prueba, la muestra de leche no contiene antibióticos o antibióticos de leche a nivel más bajo que el valor indicado en la tabla adjunta A;

    -Si la línea de la prueba es de color más ligero que la línea control, el resultado es POSITIVO, lo que significa que, dada la sensibilidad de nuestra prueba, la muestra de leche contiene antibióticos igual o superior al valor de detección indicado en la tabla adjunta A.
17. Cuando haya terminado de interpretar una línea continua con las otras líneas.
18. Si hay duda, considera la muestra como POSITIVA y confirma tu interpretación realizando una segunda lectura visual en los siguientes 15 minutos.
19. Anote su valoración sobre cada una de las varillas de medición

20. Las varillas de medición se pueden archivar como un registro permanente, requiriéndose quitar la almohadilla de muestra. Nótese bien la Intensidad de la línea de trabajo se oscurece al morir.

Figura A: Interpretación visual

La lectura se la debe realizar dentro de los 10 minutos. Leer el manual de lectura de interpretación.

X. LIMITES DE DETECCIÓN:

BETALACTAMICOS (ppb)	SULFONAMIDAS (ppb)	TETRACICLINAS (ppb)
PENICILINAS	Sulfadiazina 5-6	Tetraciclina 80-100
Penicilina-G 2-3	Sulfapiridina 0,5-1	Oxitetraciclina 50-60
Ampicilina 3-5	Sulfatiazol 4-8	Clortetraciclina 50-55
Amoxicilina 3-5	Sulfametoxazol 150-300	Doxycycline 20-30
Oxacillin 12-18	Sulfamethazine 1-1,5	
Cloxacillin 6-8	Sulfametoxipiridazina 1-3	
Dicloxacillin 6-8	Sulfadimetoxina 10-15	
Nafcillin 30-40	Sulfacetamida 300-600	
	Sulfamerazina 1,5-2,5	
	Sulfamonometoxina 7-14	

BETALACTÁMICOS (ppb)	SULFONAMIDAS (ppb)	TETRACICLINAS (ppb)
CEFALOSPORINAS	Sulfaquinoxalina 15-30	
Ceftiofur 10-15	Sulfacloropiridazina 5-10	
Cefquinoma 30-35	Sulfaguanidina 15-25	
Cefazolin 18-22	Sulfamethizole 75-100	
Cefapirina 6-8	Sulfasalazina 250-350	
Cefacetrile 30-40		
Cefoperazona 3-4		
Cefalexin 1000-1200		
Cefalonio 3-5		

Tabla A: Límites de detección del TriSensor en leche

Fuente: Inserto de la prueba rápida para la detección de betalactámicos, sulfamidas y tetraciclinas en leche. Belgium. Trisensor. 2013

Anexo 5: Registro de los resultados obtenidos

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

HOJA DE REGISTRO DE DATOS Y RESULTADOS DE MUESTRAS

Tema: "**Determinación de la presencia de residuos antibióticos en leche cruda para el consumo en la ciudad de Loja"**

Encargada: Jessica Torres

Fecha: noviembre- diciembre 2017

Prueba a realizar: Determinación de residuos antibióticos en leche

Código	Lugar de Procedencia	Resultado			Observaciones
		S	T	B	
1201	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1202	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1203	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1204	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1205	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1206	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Posi.	
1207	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1208	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1209	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1210	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	

S= Sulfamidas T= Tetraciclinas B= Betalactámicos

Código	Lugar de Procedencia	Resultado			Observaciones
		S	T	B	
1201	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1202	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1203	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1204	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1205	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1206	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Posi.	
1207	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1208	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1209	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1210	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1211	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1212	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1213	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1214	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1215	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1216	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1217	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1218	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	

S= Sulfamidas T= Tetraciclinas B= Betalactámicos

Código	Lugar de Procedencia	Resultado			Observaciones
		S	T	B	
1219	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1220	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1221	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1222	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1223	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1224	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1225	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1226	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1227	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1228	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1229	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1230	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1231	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1232	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1233	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1234	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1235	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1236	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1237	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	

S= Sulfamidas T= Tetraciclinas B= Betalactámicos

Código	Lugar de Procedencia	Resultado			Observaciones
		S	T	B	
1238	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1239	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1240	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1241	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1242	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1243	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1244	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Posi.	
1245	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1246	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1247	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1248	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1249	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1250	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1251	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1252	Mercado Central	Neg.	Neg.	Posi.	
1253	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1254	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Posi.	
1255	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1256	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	

S= Sulfamidas T= Tetraciclinas B= Betalactámicos

Código	Lugar de Procedencia	Resultado			Observaciones
		S	T	B	
1257	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1258	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1259	M. Pequeño productor	Neg.	Neg.	Neg.	
1260	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1261	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1262	Mercado San Sebastián	Neg.	Neg.	Neg.	
1263	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1264	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1265	Mercado Central	Neg.	Neg.	Neg.	
1266	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Posi.	
1267	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	
1268	Mercado Mayorista	Neg.	Neg.	Neg.	

S= Sulfamidas T= Tetraciclinas B= Betalactámicos

Jessica Elizabeth Torres M.
TESISTA

Anexo 6: Fotografías

PROCEDIMIENTO

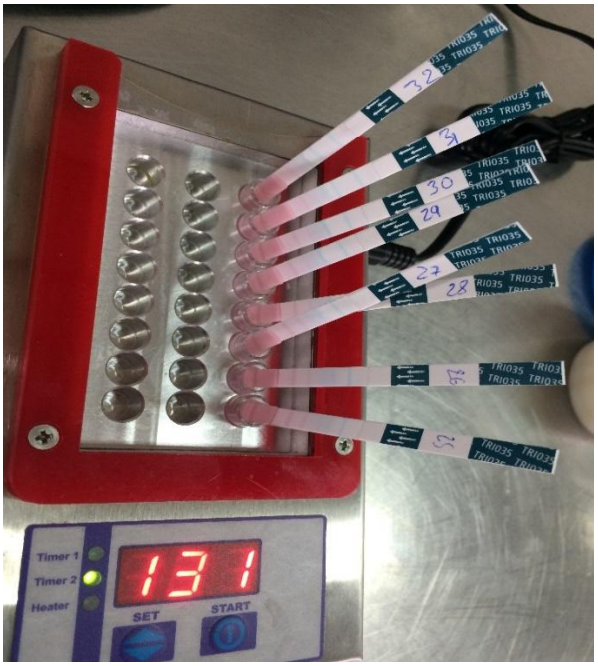
Control positivo y control negativo

Conecta el sensor de calor y espera hasta que la temperatura se haya estabilizado a 40 ° C.

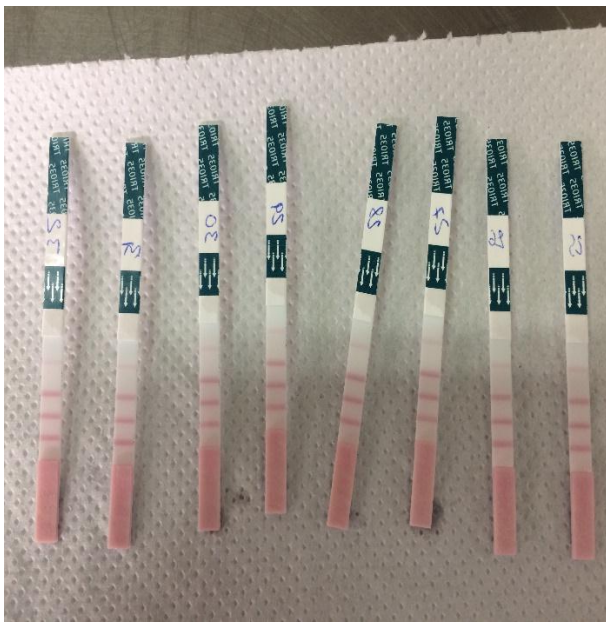
La temperatura ideal de la muestra de leche es entre 4°C y 20°C

Coloque los micropocillos en el bloque que se usara a 40 ° C

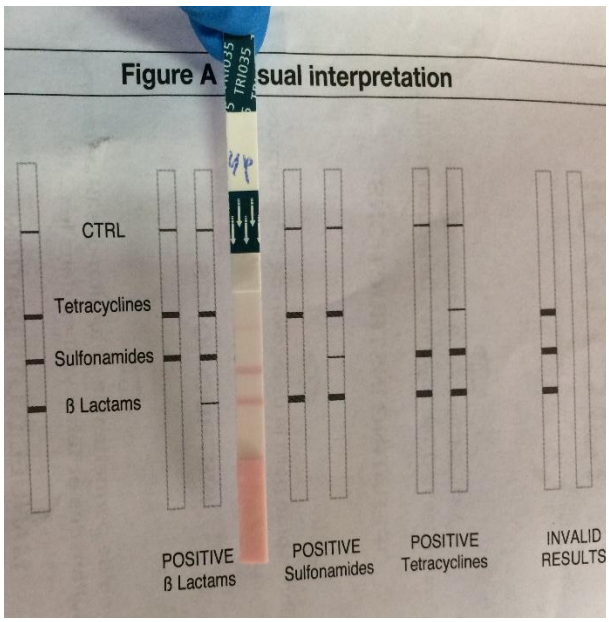
Se sumerge la varilla medidora en cada uno de los micropocillos que se encuentran en la incubadora



Sacar las varillas de impresión de los micropocillos para colocarlas sobre una hoja de papel.



Leer e interpretar



Anexo 7: Certificación de haber realizado el procesamiento de muestras

Ingeniero, Darwin Ramiro Armijos Cabrera, **RESPONSABLE DE LA PLANTA PILOTO DE PROCESAMIENTO DE LÁCTEOS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**

C E R T I F I C O:

Que, la señorita Jéssica Elizabeth Torres Michay, con cédula 1106049842, y estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, realizó el análisis de muestras, como parte de su trabajo de investigación: "Determinación de la presencia de residuos antibióticos en leche cruda para el consumo en la ciudad de Loja", realizado durante el mes de diciembre de 2017, mediante la utilización de la incubadora Heatsensor; además, el mencionado trabajo lo realizó en los plazos establecidos y bajo supervisión del responsable de la Planta Piloto de Procesamiento.

Es todo cuanto puedo informar en honor a la verdad y autorizo a la interesada hacer uso del presente, para lo que a estime conveniente.

Loja, 16 de enero de 2018.

Atentamente,

Universidad Nacional de Loja
Quinta Experimental
"Punzara"
Plantas Piloto de Procesamiento de
Lácteos y de Cárnicos

Ing. Darwin R. Armijos C.

RESPONSABLE DE LA PLANTA PILOTO DE PROCESAMIENTO DE LÁCTEOS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA.

Anexo 8: Certificado de Traducción del Resumen

English Speak Up Center

Nosotros "English Speak Up Center"

CERTIFICAMOS que

La traducción del documento adjunto solicitada por la señorita **JESSICA ELIZABETH TORRES MICHAY** con cédula de ciudadanía número **1106049842** cuyo tema de investigación se titula: **"DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS EN LA LECHE CRUDA PARA EL CONSUMO EN LA CIUDAD DE LOJA",** ha sido realizada por el Centro Particular de Enseñanza de Idiomas "English Speak Up Center".

Esta es una traducción textual del documento adjunto, y el traductor es competente para realizar traducciones.

Loja, 10 de noviembre de 2018

Elizabeth Sánchez Burneo

Mgs. Elizabeth Sánchez Burneo

DIRECTORA ACADÉMICA

Speak Up Center

DIRECCIÓN: SUCRE 207-48 ENTRE AZUAY Y MIGUEL | TELF: 2565502 - 0955263260