

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE VETERINARIA

**DETERMINACION DE RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS
EN LECHE PRODUCIDA EN POTRERILLOS, CORTES,
HONDURAS**

TESIS
PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD
DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR
JORGE ARTURO SERRANO VILLANUEVA

AL CONFERIRLE EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 1996

719
4

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO
SECRETARIO
VOCAL I
VOCAL II
VOCAL III
VOCAL IV
VOCAL V

Dr. José Perezcanto F.
Dr. Humberto Maldonado C.
Lic. Rómulo Gramajo
Dr. Otto Lima
Dr. Mario Motta
Br. Hannia Ruiz
Br. Luis Sandoval

ASESORES DE TESIS:

Dr. Mario Augusto Ramirez
Dr. Carlos José Lanza
Dr. Luis Arturo Linares

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

De conformidad con lo que se establece en los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el trabajo de tesis titulado:

*Determinación de residuos de antibióticos en leche producida en
Potrerillos, Cortes, Honduras.*

Como requisito previo a optar al Título profesional de
Médico Veterinario

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

ACTO QUE DEDICO

a Dios	Por permitirme conocerle
a mis Abuelos	Salvador Serrano QEPD Josefina de Serrano Manuel Villanueva QEPD Carmen de Villanueva QEPD Jorge Abilio Serrano Adelaída Villanueva de Serrano
a mi Padre	Jorge Abilio, Jorge Salvador, Jorge Omar, Melani y Grisel
a mi Madre	Dilma Suyapa
a mis hermanos	en especial a Bayron, Casco, Erasmo y Eddy
a mi cuñada	en especial a mis sobrinos: Ana Marcela, Dilma Ninet, Raquel Alejandra, Miguel Angel y Dennis Fernando.
a mis amigos	
a todo el resto de mi familia	Gran Comisión de Guatemala
a mi Iglesia	

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

A los catedráticos de la Escuela de Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A mis asesores de Tesis: Dr. Mario Augusto Ramírez
 Dr. Carlos José Lanza
 Dr. Luis Arturo Linares

Al personal del laboratorio de Recursos Naturales de la región de San Pedro Sula, por su colaboración tan desinteresada.

A los Señores: MBA Gustavo Lepe
 Dr. Juan Prem

A mi familia, por todo su apoyo prestado en toda mi vida.

A los miembros de la Iglesia Gran Comisión de Guatemala por su amistad y consejos, especialmente a nuestro Pastor Miguel Muñoz.

A todas las personas que colaboraron en la realización de esta tesis.

INDICE DE CONTENIDO

I INTRODUCCIÓN	1
II HIPÓTESIS	3
III OBJETIVOS	3
IV REVISIÓN DE LITERATURA	4
1. RESEÑA HISTÓRICA	4
2. PRINCIPALES CAUSAS DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS	5
3. RESIDUOS DE LA TERAPIA ANTIMICROBIANA	7
4. TERAPIA DE VACA SECA Y SU EFECTO EN LA PRESENTACIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN LA LECHE	10
5. ALTERACIONES DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN PRODUCTOS LÁCTEOS	12
6. EFECTO DEL VOLUMEN DE PRODUCCIÓN Y PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS	12
7. ANTIBIÓTICOS EN EL ALIMENTO Y SU EFECTO EN PRESENCIA DE RESIDUOS EN LA LECHE	13
8. PRUEBAS PARA LA DETECCIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS	14
V MATERIALES Y MÉTODOS	16
1. MATERIALES	16
1.1 RECURSOS HUMANOS	16
1.2 RECURSOS DE LABORATORIO	16
1.3 CENTROS DE REFERENCIA	17
2. MÉTODOS	17
2.1 ÁREA DE ESTUDIO	17
2.2 DURACION DEL ESTUDIO	17
2.3 TOMA DE MUESTRAS	17
2.4 DESCRIPCION DEL METODO	18
2.5 INTERPRETACION DEL TEST	18
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	19
VI FINANCIAMIENTO	19
VII RESULTADOS Y DISCUSION	20
VIII CONCLUSIONES	21
IX RECOMENDACIONES	22
X ANEXOS	23
XI BIBLIOGRAFIA	24

I INTRODUCCIÓN

Históricamente la leche y todos sus subproductos han sido una fuente alimenticia de elevado valor nutricional para la población en general. Su accesibilidad debido al precio y su alto volumen de producción en centroamerica, la hacen un alimento obligado en la canasta básica familiar.

En la población infantil se utiliza la leche como el alimento principal en los primeros años de vida. Tomando en cuenta que el 95% de estos niños ingieren la leche de vaca comercializada en forma líquida y que en nuestro medio un 80% de esta leche no recibe ningún tipo de procesamiento industrial (pasteurización, detección de residuos de antibióticos, aflatoxinas, hormonas, residuos químicos, microorganismos patógenos), se corre el riesgo de contraer enfermedades infecto contagiosas o intoxicaciones alimentarias. De esto deriva la importancia de promover un mayor control de la higiene en la producción láctea y una forma de hacerlo es incentivar a los productores a aplicar algunos estándares de calidad mediante muestras o pruebas a nivel de finca (9, 18).

Las prácticas inadecuadas en el manejo de los animales, así como las de producción (uso de fármacos, alimentos de dudosa procedencia, mal sistema de ordeño, equipo defectuosos, etc.), ponen en duda la calidad higiénica de la leche, por lo que representa un riesgo potencial para la salud de toda la población consumidora de este producto.

Esta deficiente calidad de la leche tiene un impacto negativo en la industria láctea, ya que muchos de los subproductos no se pueden elaborar satisfactoriamente o su elaboración resultaría defectuosa, inadecuada maduración de quesos, quesos amargos, defectos en la calidad del yogurt, etc.

El 5 al 10 % de los adultos son sensibles a los antibióticos y después de la ingestión de 0.003 UI de penicilina G, presentan respuestas alérgicas (urticaria, asma, shock anafiláctico, etc.), asimismo cantidades muy pequeñas pueden ser cancerígenas, mutagénicas, causar inducción e inhibición de enzimas, formación de cepas bacterianas resistentes. La FDA, considera que la leche contaminada con antibióticos esta adulterada (4,7,15,18).

Este trabajo se realizará en la comunidad de Potrerillos, Cortés, Honduras en donde, según un estudio de la municipalidad , el 90 % de la población consume leche fresca comercializada en forma directa por las fincas productoras de la comunidad en las cuales no hay ningún tipo de procesamiento, por lo que se hace necesario establecer algunos parámetros que permitan evaluar la calidad real de la leche en esta zona.

El presente trabajo tendrá como propósito determinar si hay presencia ó no de residuos de antibióticos, en la leche producida en el área de estudio, lo que proporcionará información que permitirá evaluar un aspecto de la calidad de dicho producto.

II HIPÓTESIS

La leche procedente del ganado lechero en producción de Potrerillos, se encuentra libre de residuos de antibióticos.

III OBJETIVOS

GENERAL

Contribuir a la obtención de información que permita verificar la calidad real de leche que se produce en la comunidad de Potrerillos, Cortés, Honduras.

ESPECIFICO

Determinar la proporción de residuos de antibióticos presentes en la leche cruda procedente del ganado lechero en producción.

IV REVISIÓN DE LITERATURA

1. RESEÑA HISTÓRICA

Los antibióticos son una clase especial de agentes quimioterapéuticos, obtenidos generalmente de organismos vivos. La palabra antibiótico refiere a un producto metabólico de un organismo que es perjudicial o inhibitorio, en muy pequeñas cantidades para otros microorganismos (13). Históricamente el problema de residuos de antibióticos en leche es dramático, ya que se tienen datos proporcionados por la FDA que en 1956 se estimó que el 10% de la población de Estados Unidos estaba sensibilizada a la penicilina. Las inspecciones en la leche antes de 1960 revelan que el 5% de la leche producida en Estados Unidos era positiva a residuos de antibióticos; después de 1960 este porcentaje disminuyó a 0.5%. En 1970, entre el 7-15% de la leche producida era reactiva positiva a residuos de antibióticos; actualmente sólo el 0.1% de la leche de Estados Unidos es reactiva positiva a la presencia de residuos en la leche. Es de resaltar que las inspecciones antes de 1975 probablemente usaron límites de detección de 0.05UI de penicilina / ml, mientras que las pruebas recientes son más sensibles y detectan por lo menos 0.005UI / ml (4, 7 15).

En Guatemala, se han llevado a cabo estudios en el municipio de Villa Nueva, departamento de Guatemala y en el municipio de Asunción Mita, departamento de Jutiapa, con 32.8 y 6.61% de reactores positivos, respectivamente usando el método Delvotest-P (1,4,5).

La presencia de residuos de estas drogas (antibióticos) en la leche ha sido de gran interés para la industria láctea en la actualidad; dichos residuos son ilegales (FDA) y los suministros de leche que contienen concentraciones detectables no son aceptables en Estados Unidos. Se ha estimado que las pérdidas económicas resultantes de los residuos de antibióticos en leche ascienden hasta 50 millones de dólares al año (4, 7).

2. PRINCIPALES CAUSAS DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS

La inspección de comida y administración de drogas en el Reino Unido, indica que el uso inadecuado de antibióticos en el control de mastitis es la mayor fuente de contaminación antibiótica en el abastecimiento o suministro de leche y carne. Una inspección realizada en 1981 por el Consejo del Mercado Lácteo por el Reino Unido atribuyó 61% de las fallas en residuos a la infusión intramamaria en vacas lactantes; 31% a la terapia de vaca seca y 6% a inyecciones (6,7).

Las principales causas y fuentes de residuos de antibióticos en nuestro medio son las siguientes:

1. Infusiones intramamarias o intravenosas para tratamiento de mastitis.
2. Terapia de enfermedades por inyecciones intramusculares o intravenosas.
3. Infusión oral.
4. Suplementación de antibiótico en la comida

Un muestreo selectivo sobre vacas que mostraban signos clínicos de mastitis mostró que casi un 27%, tenían residuos de antibióticos en uno o más tejidos

La industria cárnica denuncia que un gran porcentaje de residuos de antibióticos en las carcazas es causado por vacas lecheras de descarte que han sido tratadas por mastitis (6).

Causas principales en la presencia de residuos de antibiótico en leche son:

1. Uso prolongado o uso excesivo de drogas aprobadas.
2. Registros deficientes de tratamientos.
3. Fallas en observar el tiempo recomendado para la eliminación del antibiótico por el organismo del animal.
4. Secreción prolongada de la droga.
5. Problemas de identificación de animales tratados.
6. Equipo de lechería contaminado.

7. Dosificación múltiple.
8. Errores accidentales del lechero o productor al transferirlo al tanque.
9. Productos no usados de acuerdo a la indicación de el fabricante.
10. El no descarte de la leche durante el tiempo recomendado.
11. Retirar o descartar la leche solamente de los cuartos tratados.
12. Lactancia temprana (al inicio de la lactancia o cortos períodos secos)
13. Compra de vacas tratadas.
14. Uso de terapia de vacas secas en vacas lactantes (7).

En el presente estudio se señala que los registros inapropiados para la identificación de las vacas tratadas, así como también para llevar el adecuado descarte de la leche en el tiempo recomendado por el uso de los antibióticos, es una de las causas principales de la presencia de residuos de antibióticos en la granja, por ello es importante una forma fácil y eficiente de identificación de las vacas sometidas a tratamientos con dichos fármacos, esto es más importante para los granjeros con rebaños muy grandes. Alisson, sugirió que la excreción prolongada de los antibióticos en la leche es como una falsa inspección en la granja, la evidencia se presentará luego, al mostrar que los antibióticos pueden ser detectados en la leche después de la expiración del período de descarte del tratamiento recomendado para el producto (7).

El equipo contaminado puede ser un problema, la persistencia o duración de la leche en los tarros registradores podría contaminar la leche de 25 a 100 vacas, aunque las vacas tratadas pudieran haber sido ordeñadas en cubetas separadas. Es posible que el sobrellenamiento de las cubetas y la tubería de la leche contaminada con presencia de residuos de antibióticos, resultaría positivo a su detección en el tanque de la granja (7).

3. RESIDUOS DE LA TERAPIA ANTIMICROBIANA

La penicilina ha sido detectada en la leche de cuartos mastíticos y normales hasta después de 72 horas postratamiento. El período de descarte de leche contaminada es de 72 horas, sin embargo la penicilina G ha permanecido en la leche de 48 horas a 18 días postratamiento con mastitis. La eliminación de residuos de penicilina es más lenta en los animales con mastitis y bajas productoras que en vacas sanas y altas productoras además más baja que las vacas mayores productoras (4, 11).

La cloxacilina fue detectada en leche de cuartos infectados y normales después de 48 a 64 horas después del tiempo de descarte de la leche recomendado; siendo el tiempo recomendado para el producto que tiene cloxacilina sódica de 48 horas ó 4 ordeños. De esta manera tanto la cloxacilina como la penicilina en infusiones intramamarias puede exceder de los tiempos de descarte recomendado (6,7).

Otro estudio reporta que tanto la penicilina como la cloxacilina, han sido detectadas en leche obtenida de cuartos no tratados de vacas sometidas a tratamientos con antibióticos contra mastitis clínica. Los resultados de otro estudio puntualizan que una combinación de penicilina más novobiocina podrían ser detectadas después de 72 horas, siendo este el período de descarte para estos fármacos.

Lo anterior reitera la importancia de los puntos principales en la presencia de residuos de la terapia antimicrobiana (antibióticos) en la leche de las granjas.(7).

Aguilera, reporta una tabla sobre el efecto de algunos antibióticos sobre algunos cultivos lácteos (ver tabla 1.).

TABLA 1
RESIDUOS DE ALGUNOS ANTIBIÓTICOS DESPUÉS DE SU APLICACIÓN
INTRAMAMARIA

ANTIBIÓTICO	DOSIS X CUARTO	HRS. POST-TRATAMIENTO	RESIDUOS (UI o MG/ML de leche).
Penicilina G.	100,000 UI	72	Trazas
Procainica	100,000 UI	48	Trazas
Solución acuosa de penicilina	300,000 UI 500,000 UI	120 48-72	0.06 Trazas
Solución oleosa de penicilina	100,000 UI 100,000 UI 300,000 UI 500,000 UI	96 48 216 96	Trazas Trazas 0.06 0.29
Clortetraciclina	210 mg 400 mg 1,000 mg	120 24 60	0.25 1.00 1.00
Estreptomicina	290 mg 300 mg 500 mg 500 mg	72 48 72 96	- 1.00 - 1.02
Cloranfenicol	500 mg	24	-
Oxitetraciclina	400 mg 400 mg	24-72 24-72	Trazas Trazas

En 1994, se realizó un estudio aplicando cefarina sódica a 5 vacas para luego ser clarificadas para verificar la presencia de la misma y establecer el tiempo en que el fármaco podría ser encontrado. Se estableció que después de 96 horas, no se encontraron residuos de antibióticos coincidiendo con el tiempo de descarte recomendado. Sin embargo, este estudio ha detectado residuos de antibióticos al final del tiempo de descarte de leche recomendado. En 35% de las vacas tratadas con cefarina sódica se encontraron 21 y 12% de muestra de leche positiva a 24 y 48 horas,

respectivamente después del tiempo de descarte recomendado. Aproximadamente 27% de las vacas tratadas con penicilina tuvieron residuos al final del periodo de descarte recomendado (7,11).

Combiotic® (penicilina procaínica más dehidroestreptomina), fue detectado en leche 24 a 48 horas después de la infusión intrauterina. Los antibióticos administrados como terapia de vaca seca no parecen ser causa de residuos de antibióticos si la leche no es llevada al consumidor en los primeros 4 días posparto.

Muestras de leche fueron negativas 4 días posparto después de infusión de la penicilina más dehidroestreptomina. En este estudio 4 diferentes productos para vacas secas fueron suministrados en 5 rebaños comerciales, de las primeras 186 muestras de calostro 4 fueron positivas con Delvotest pero sólo una fue confirmada positiva con *Bacillus stearothermophilus*, la mayoría de períodos secos excedieron de 46 días, la vaca confirmada positiva tuvo un período seco de 50 días; de las muestras colectadas de la primera leche comercial, 96% de las vacas que recibieron terapia de vaca seca fueron negativas. Los investigadores concluyen que si las indicaciones del fabricante de productos para tratamiento de vaca seca son seguidos correctamente, este tratamiento no provocará residuos de antibióticos después del destete (3,7).

Otro trabajo reportó que la penicilina fue clarificada en 82% de las vacas dentro de 4 días posparto; una vaca fue destetada prematuramente y un residuo fue detectado a los 4 días posparto. A los 3 días posparto se examinaron muestras de leche de 62 vacas siendo los resultados : de *Bacillus stearothermophilus* 3 vacas positivas, Delvotest 6 vacas positivas, y Penzime 4 vacas positivas en el total del estudio (3,7,11).

En otro estudio similar se reportan los siguientes resultados 0, 3 y 5 vacas resultaron positivas respectivamente con los métodos anteriormente mencionados. Los resultados pueden ser atribuidos a que la lactoferrina que es alta en el calostro y en la leche de mastitis aguda inhibe el crecimiento de *Bacillus stearothermophilus* (14).

4. TERAPIA DE VACA SECA Y SU EFECTO EN LA PRESENTACIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN LA LECHE.

La terapia de vaca seca fue administrada de la siguiente manera:

1. Al final del secado.
2. 6 semanas antes del parto.
3. 4 semanas antes del parto.
4. 3 semanas antes del parto.

Este tipo de tratamiento se le dio a 30 vacas; se realizó el análisis mediante la prueba de detección del **Bacillus stearothermophilus**. En cada una de las vacas los residuos desaparecieron al final de los 4 días del descarte de calostro.

Los residuos estaban presentes en la leche normal cuando la droga fue aplicada dentro de la sexta semana del parto.

Este estudio sugiere que la terapia de vaca seca debiera de evitarse para los periodos de menos de 6 semanas antes del parto.

La terapia de vaca seca es efectiva en prevenir nuevas infecciones intramamarias durante el período seco temprano y para eliminar infecciones existentes (7).

La conclusión de esta investigación es que las pruebas de diagnóstico de residuos de antibióticos, deben ser realizadas en leche después del 4 día posparto y que la leche debe ser descartada hasta que las pruebas sean negativas. Este estudio propone mantener la practica del tratamiento de vaca seca en vez de que los productores traten a todas las vacas con período secos cortos (7).

En infusiones intramamarias se han encontrado concentraciones de antibióticos en leche de hasta 0.04 a 0.2 unidades/ml; los residuos fueron encontrados después de 4 a 6 ordeños. Es de tomar en cuenta, que los cálculos actuales indican que la leche de una vaca con una concentración de residuos de antibióticos de 0.2 unidades de penicilina/ml podría contaminar la leche de 40 vacas y aún ser detectables 0.005 unidades/ml (2,6,20).

**INHIBICIÓN DE CULTIVOS LÁCTICOS POR ACCIÓN DE ALGUNOS
ANTIBIÓTICOS.**

CULTIVO	PENICILINA UI/ML		ESTREPTOMICINA MG./ML		CLORTETRACICLINA MCG. /ML	
	PARCIAL	TOTAL	PARCIAL	TOTAL	PARCIAL	TOTAL
<u>S. cremoris</u>	0.05-0.07	0.1-0.5	-	-	-	-
<u>S. thermophilus</u>	.0017-0.17	0.025-.05	0.05-5.0	-	0.001-.01	0.3
<u>S. lactis</u>	-	-	-	-	-	0.5
<u>L. acidophilus</u>	.3-0.6	-	-	-	-	-
<u>L. bulgaricus</u>	.1-0.3	0.3-0.6	-	-	-	0.3-0.5
<u>L. casei</u>	.30.6	0.05-5.0	-	-	-	0.05
<u>L. helveticus</u>	.3	0.1-0.5	-	-	-	-
<u>L. lactis</u>	-	0.05-0.3	-	-	-	0.3-3.0
Cultivo para mantequilla	0.17 0.17	-	0.1-0.2	-	0.01-0.1	-
Cultivo para queso	.05-0.2	0.02-0.5	0.04	-	0.02-0.25	-

5. ALTERACIONES DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN PRODUCTOS LÁCTEOS

ALTERACIONES CAUSADAS EN PRODUCTOS LÁCTEOS POR RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS

Quesos y productos fermentados :

1. Demora de acidificación.
2. Demora de coagulación.
3. Desarrollo deficiente de cuajada.
4. Disminuye retención de agua (quesos).
5. Proliferación de flora indeseable (patógenos, coliformes etc.).
6. Cuerpo débil (quesos).
7. Textura blanda (quesos).
8. Desarrolla sabor amargo por excesiva acción del cuajo.
9. Desarrolla sabor dulce (quesos tipo gruyere).
10. Consistencia arenosa (yogurt).

Mantequilla:

Interfiere con su olor característico (olor fermentado).

6. EFECTO DEL VOLUMEN DE PRODUCCIÓN Y PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS

Efecto del volumen de producción en el tiempo de excreción de antibióticos

Se ha comprobado que el volumen de producción láctea también juega un papel importante en la presencia de residuos de antibióticos. En 1963 la penicilina G fue administrada intramuscularmente en dosis de 3 ó 6 millones de UI a 8 vacas saludables en lactación temprana y tardía , se uso un método de detección rápido con una sensibilidad de 0.05 UI penicilina/ml, una vaca baja productora continuaba excretando penicilina 108 horas postratamiento, sin embargo el antibiótico fue detectado en la leche de vacas altamente productoras después de 36 horas. De las 16 vacas, 5 vacas produjeron leche con una prueba positiva después de haber ocurrido una prueba negativa (11).

Otros antibióticos residuales que se han encontrado en la leche por tratamiento intrauterino son: tetraciclina, dehidroestreptomicina, 1 bencil-penicilina, oxitetraciclina y combinaciones de penicilina-estreptomicina.

7. ANTIBIÓTICOS EN EL ALIMENTO Y SU EFECTO EN PRESENCIA DE RESIDUOS EN LA LECHE

Es importante señalar en los años 50, la introducción de antibióticos en el alimento de animales, con lo que se introdujo a una nueva era en el manejo y producción de carne, y desde entonces han sido usados por aproximadamente 40 años. Durante la mitad de este período se ha cuestionado su uso por algunos observadores, los cuales señalan la posibilidad de un riesgo en salud pública.

El argumento del uso de antibióticos en el alimento es que permiten la prevención y tratamiento de enfermedades bacterianas sistémicas, también puede mejorar el desarrollo en tasa de crecimiento y eficiencia alimenticia. En Estados Unidos el uso de antibióticos en el alimento se circunscribe a tetraciclina y penicilina, siendo las tetraciclinas más usadas: clorotetraciclina y oxitetraciclina.

Primero, se usaron en concentraciones bajas, pero después bajó su costo de fabricación y por ello sus concentraciones en alimento aumentaron (6,10,17).

En los años 60 los científicos descubrieron la resistencia bacteriana mediada por plasmidios y que este tipo de resistencia podría tener transferencia genética, por ellos se postuló que el uso de ciertos antibióticos en el alimento podrían generar resistencia en la flora entérica del ganado y transferir esta resistencia a patógenos humanos y perder por ello los antibióticos su eficacia en medicina humana (6, 8).

Carisson et al., estudiaron vacas con mastitis inducida y con presencia de endotoxina de *Salmonella tifimurium* y encontraron que puede provocar resultados falsos positivos que se relacionan con el mayor aumento de la lactoferrina y lisosima ; también puede dar falsos positivos animales no tratados con antibióticos que padezcan afecciones del tracto urinario, tales como pielonefritis, cistitis, urolitiasis (3 , 19).

8. PRUEBAS PARA LA DETECCIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS

Pruebas para la detección de residuos de antibióticos tanto a nivel de campo como en laboratorio, entre ellos están: (4)

1. - Método de cilindro-plato **Sarcina lútea**.
2. - Prueba de Penzime.
3. - Disco de análisis de **Bacillus stearothermophilus**.
4. - Prueba de Charm.
5. - Prueba de TTC (Cloruro 2,3,5 trifeniltetrasodium).
6. - Método de disco de filtro.
7. - Método de disco de Watman.
8. - Prueba de Delvotest-P.

DELVOTEST-P

Fue introducido en 1975 y utiliza el **Bacillus Stearothermophilus var. calidolactis**, el cual produce un ácido y causa que el púrpura de bromocresol cambie a amarillo, la presencia de un antibiótico previene la formación del ácido y se observa un color púrpura o azul, las concentraciones mínimas detectadas por la prueba es de 0.004-0.005UI/ml. La prueba esta aprobada por la AOAC (Asociación de Químicos Analíticos Asociados) para 0.005 UI. La prueba requiere de 2.5 a 2.75 horas de incubación y es fácil de llevar a cabo (12 , 16).

El Delvotest- P ha sido usado tanto para muestras de leche de vacas individuales, como muestras de tanque para detectar posibles residuos antibióticos por ello este ha sido usado en las plantas lecheras antes que se les permita a los camiones descargar la leche en la planta (12).

En un ensayo el Delvotest-P fue usado para monitorear 288 muestras de leche colectadas dentro de un mes, este test llevó 7 muestra positivas y 1 muestra cuestionable y el test fue mas sensible a la penicilina que el Análisis de Disco o la prueba de placa en cilindro de **Sarcina lútea**, las muestras positivas para penicilina(14).

Pater encontró que el Devotest tuvo 100% de lecturas correctas para un rango de 0.004-0.008UI/ml. Aunque menciona que en el nivel de 0.025UI de penicilina/ml existe el 11% de lecturas falsas positivas sobre la muestra control negativo (12).

Las dos mejores pruebas en el mercado es el Delvotest-P y prueba Penzime los cuales fueron similares en detectar residuos de antibióticos comparado con el *Bacillus stearothermophilus* (6,14).

LIMITES DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS DETECTADOS POR EL DELVOTEST-P

ANTIBIÓTICOS	DELVOTEST UI/ML.
Penicilina	0.004
Cloxacilina	0.025
Ampicilina	0.003
Estreptomicinas	8.000
Neomicina	6.000
Tetraciclina	0.200
Oxitetraciclina	0.300
Eritromicina	1.750
Cefalosporina	-
Cefarina	0.008
Novobiocina	0.8
Rifamicina	0.050
Etacilina	-
Amoxicilina	-
Gentamicina	0.5
Spectinomicina	12.5

V MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIALES

1.1 RECURSOS HUMANOS

El sustentante.

Personal técnico del Laboratorio de Diagnóstico del Departamento de Recursos Naturales, del Ministerio de Agricultura de Honduras.

Personal de la Unidad Académica de Salud Pública Veterinaria y Medicina Preventiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. USAC

1.2 RECURSOS DE LABORATORIO

1.2.1. Ampollas conteniendo **Bacillus stearothermophilus, variedad calidolactis** en un medio sólido.

1.2.2. Tableta con nutrientes, a base de peptona, glucosa, leche en polvo e indicador.

1.2.3. Aparato dosificador para tomar muestras.

1.2.4. Pipeta desechables.

2.2.5. Lápiz graso.

1.2.6. Gradillas.

1.2.7. Termómetro.

1.2.8. Baño de María.

1.2.9. Hielera.

1.2.10. hielo

1.2.11. Muestreador de leche con capacidad de 100 cc.

1.2.12. Frascos para muestreo.

1.2.13. Recipientes para recolectar las muestras por productor.

1.2.14. 40 muestras de leche.

1.3 CENTROS DE REFERENCIA

1.3.1. Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

1.3.2. Biblioteca del INCAP.

1.3.3. Biblioteca del Centro Regional del Norte de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

1.3.4. Internet

2. MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDIO

Este estudio se realizó con leche de fincas provenientes de Potrerillos, Cortés, Honduras; esta leche se analizó en el laboratorio de Recursos Naturales, de la región Norte del Ministerio de Agricultura localizado en San Pedro Sula, Cortés, Honduras. El método que se utilizó fue la detección de antibióticos por medio del Método de Delvotest-P.

2.2. DURACION DEL ESTUDIO

Este estudio se realizó en un período de 8 semanas, muestreando cuatro veces cada finca con un intervalo de 15 días entre cada muestreo.

2.3. TOMA DE MUESTRAS

La muestra se obtuvo directamente después de homogeneizar la leche de cada tambo, agregándose la de todos los tambos en un recipiente común hasta completar 1000 ml, luego se homogeneizaron los 1000 ml de el recipiente, de donde se tomo un volumen de 100 ml los cuales fueron transportados en refrigeración en un recipiente de vidrio herméticamente cerrado al laboratorio de diagnóstico, donde se procedió a aplicar el método de análisis de residuos de antibióticos delvotest-p.

Este procedimiento se realizo en cada una de las 10 fincas las cuales constituyen el 100% de la población artificialmente creada para este estudio.

2.4. DESCRIPCION DEL METODO

La detección de residuos de sustancias inhibidoras (antibióticos), se realizó mediante la prueba estándar de difusión para la determinación de residuos de penicilina y otros antibióticos en la leche, denominada Delvotest-P, la cual se efectuó de acuerdo al siguiente procedimiento:

- 2.4.1. Colocar por cada muestra de leche una ampolla conteniendo agar en una bandeja, colocarla en un baño de María, romper el cuello de la ampolla.
- 2.4.2. Introducir una tableta nutriente que viene en el test por el cuello de la ampolla.
- 2.4.3. Colocar una pipeta toma-muestras seca sobre la jeringa dosificadora.
- 2.4.4. Introducir totalmente el tubo de succión, sumergir luego el extremo de la pipeta aproximadamente 1 cm. En la muestra de leche a analizarse, dejar luego que el tubo de succión retorne lentamente por medio del resorte.
- 2.4.5. Vaciar la cantidad de leche succionada (aproximadamente 0.1 ml) en la ampolla sobre el agar y la tableta.
- 2.4.6. Agregar la muestra de leche.
- 2.4.7. Colocar la bandeja con la ampolla en el baño de María a 64⁰C.
- 2.4.8. Incubar cada muestra en baño de María a 64⁰ C por un periodo de 2.0 a 2.5 horas.

2.5. INTERPRETACION DEL TEST

La aparición de una coloración amarillenta del medio sólido contenido en la ampolla indica una concentración de 0.002 UI de antibiótico por ml. de leche.

Una coloración violácea indica una concentración de 0.005 UI de antibiótico por ml. de leche.

Una coloración parcial amarillenta, parcial violácea de un medio sólido indica una concentración de 0.003 UI de antibiótico por ml. De leche.

Resultados negativos no vira el reactivo.

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se hizo tomando el 100% de la población artificialmente creada, el cual se realizó tomando en cuenta el volumen de producción láctea de cada finca que fue de un mínimo de 30 litros, no habiendo volumen máximo como tope. Pero que cumpla como requisito, que dicha leche fuera distribuida directamente en el área de estudio.

Se aplicó el método descriptivo de análisis sobre la presencia o no de residuos de antibióticos e interpretación de los resultados, reportándolo en valores porcentuales de negativo o positivo , según el caso.

VI FINANCIAMIENTO

1. Materiales y Reactivos	Q. 900.00
2. Combustible y lubricantes	Q. 400.00
3. Papelería y útiles de escritorio	Q. 170.00
4. Recopilación, tabulación y procesamiento de información	Q.1000.00
5. Gastos de impresión	Q.2500.00
6. Imprevistos	<u>Q. 487.00</u>
TOTAL	Q.5487.00

VII RESULTADOS Y DISCUSION

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el municipio de Potrerillos, Cortes, Honduras obteniéndose muestras de las diez fincas que proveen la leche directamente a los consumidores de esta población. Se tomaron cuatro muestras a cada finca en un intervalo de quince días entre cada muestreo sumando un total de cuarenta muestras. Se procedió a aplicar el método Delvotest-p para la determinación de la incidencia ó no de residuos de antibióticos en las muestras obtenidas.

De las cuarenta muestras analizadas, tres fueron positivas representando el 7.5% de presencia de antibióticos. El otro 92.5% de la leche muestreada fué negativa a la presencia de residuos de antibióticos.

Los niveles encontrados en la realización de las pruebas fueron dos muestras a un nivel de 0.03 UI / ml., representando un 5.0% de toda la leche muestreada. La muestra positiva restante tuvo un nivel de 0.02 UI / ml., representando el 2.5% de la totalidad de la leche muestreada.

Es importante mencionar que ninguna finca muestreada repitió incidencia de positividad en su leche. De los cuatro muestreos, dos fueron negativos a la presencia de antibióticos. En los otros dos muestreos se encontraron las tres muestras positivas.

VIII CONCLUSIONES

1. La leche muestreada en el municipio de Potrerillos, Cortes, Honduras, si tiene incidencia de residuos de antibióticos.
2. El porcentaje de muestras positivas en el presente estudio señala un 7.5% de incidencia de residuos de antibióticos en la leche.
3. En un 66.7% de las muestras positivas, la presencia de residuos antibióticos se determinó en 0.03 UI / ml. En el restante 33.3% de las muestras positivas, el nivel fué determinado en 0.02 UI / ml.
4. En este estudio se observó que la calidad de leche producida en Potrerillos, Cortes, Honduras, en un 92.5% se encuentra apta para consumo humano, con respecto a la incidencia de residuos de antibióticos.

IX RECOMENDACIONES

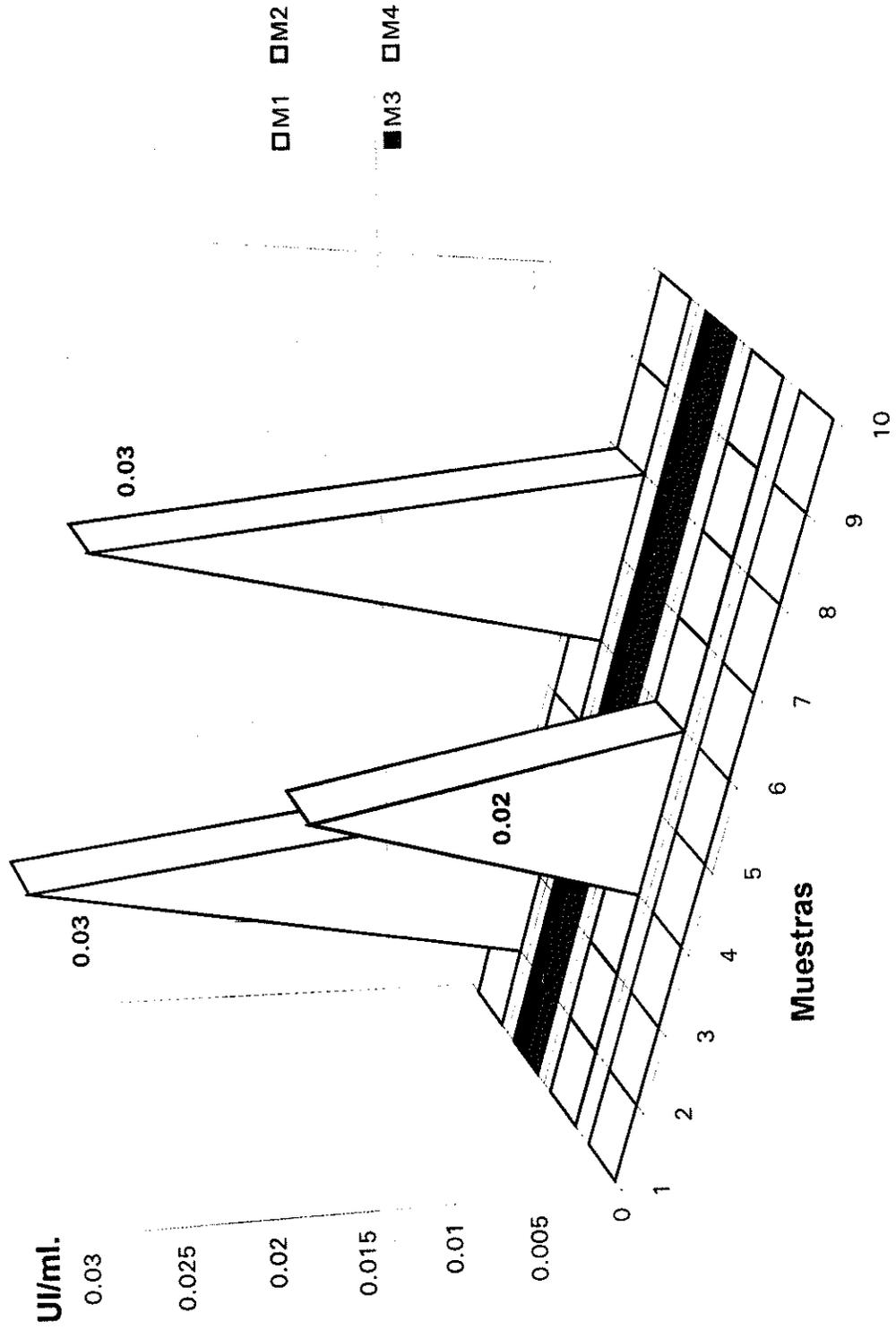
- 1. Concientizar a todos los productores de leche de Potrerillos, Cortés, Honduras, sobre el uso correcto de los antibióticos en sus animales.**
- 2. Tomar medidas a corto plazo para lograr la reducción del porcentaje de positividad de residuos de antibióticos en leche, como son, marcaje apropiado de las vacas tratadas, descarte de la leche contaminada y la implementación de pruebas de campo para evaluar la presencia ó no de antibióticos en la leche.**
- 3. Hacer un estudio que establezca un corredor de seguridad sobre la presencia de residuos de antibióticos y sus consecuencias para la salud pública.**
- 4. La organización de un grupo técnico con facultades legales de diagnosticar los niveles de antibióticos en leche y sus productos con el fin de plantear estrategias que permitan lograr que la totalidad de la leche producida en Potrerillos, Cortes, Honduras, sea apta para el consumo humano.**
- 5. Promover la evaluación de otros aspectos que determinan la calidad real de la leche con el fin de garantizar al consumidor la obtención de un producto de optima calidad.**
- 6. Solicitar a las autoridades sanitarias poner énfasis a la calidad sanitaria de la leche, tomando en cuenta su importancia en la dieta familiar de la población hondureña.**

X ANEXOS

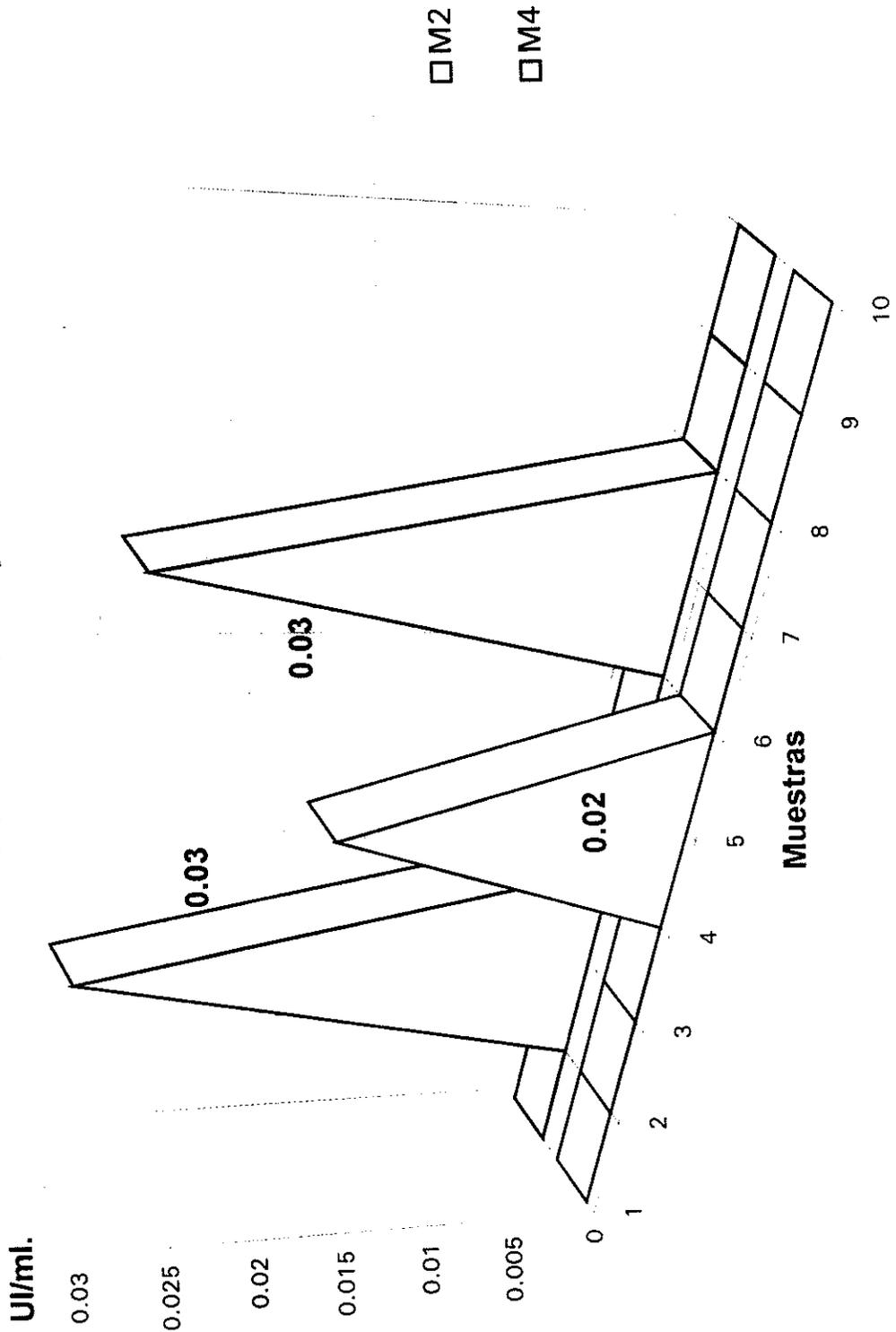
TABLA DE RESULTADOS

NUMERO DE FINCA	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3	MUESTRA 4
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0.03UI/ml
4	0	0	0	0
5	0	0.02UI/ml	0	0
6	0	0	0	0
7	0	0	0	0.03 UI/ml
8	0	0	0	0
9	0	0	0	0
10	0	0	0	0

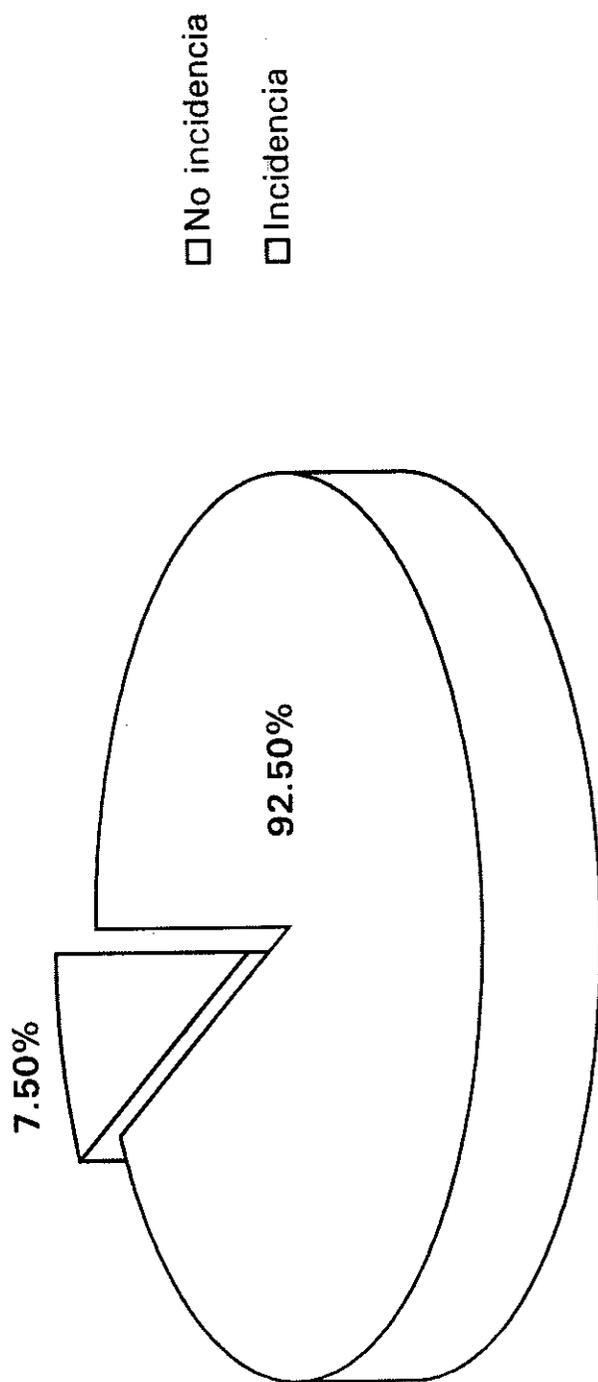
Grafica de Niveles de Residuos de Antibióticos



Grafica de Niveles de Residuos de Antibióticos en Muestras Positivas (M2 y M4)

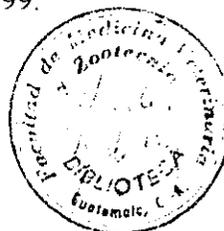


Presencia Porcentual de Residuos de Antibióticos



XI BIBLIOGRAFIA

1. AGUILERA, C. R. 1981. Determinación de residuos de sustancias inhibidoras, durante un período de la época seca en leche cruda que ingresa a Prolac. Tesis. Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 20.
2. BURTON, C.A; RICHARDSON, W. C ; STOUT, J. D. 1996. Avoid drug residues in milk and meat INTERNET. Oklahoma, E.E.U.U, OSU. p. 4270.1-4270.4.
3. CULLOR, J. S. 1995. Milk antibiotic residue tests and veterinary practice. Journal Food of Animal . (EE. UU.) 17(3):863-868.
4. CHEN, H.C; CHANG, T.C. 1994. Detection of penicilin G in milk using a conductimetric method. Journal of dairy Science. (EE.UU.) 77(6):1515-1520.
5. FIGUEROA, R.A. 1980. Determinación de residuos de antibióticos en leche cruda suministrada a la pasteurizadora moderna. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 19.
6. GUSTAFSON, H. R. 1991. Symposium: Antibiotic residues in meat and milk. Journal of Dairy Science. (EE.UU.) 74(4):1428-1433.
7. JONES, G. M; SEYMOUR, H. E. 1988. Cowside antibiotic residue testing. Journal of Dairy Science. (EE.UU.) 71(6):1691-1699.



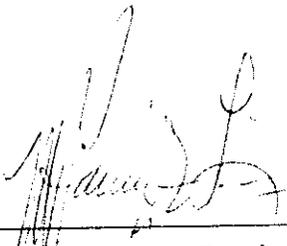
8. KNUTSON, D; HILLERS, V. 1992. Antibiotics for animals, collection food safety and quality. INTERNET. EE.UU., s.n. p. 1-3.
9. MARTIN, L. et al. 1991. Effect of an insecticide controlled -release belus on a milk antibiotic residue test. Journal of Dairy Science. (EE.UU.) 74(2): 433-435.
10. MILLER, G. E; BERGT, G. P. 1974. Oxytetracycline in bovine plasma , milk and urine after intrauterine administration. Journal of Dairy Science. (EE.UU.), 59(2): 315-323.
11. OLSON, H; KRAWWEZYK, G. R. 1963. Procaine penicillin g in milk following intramuscular injections. Journal of Dairy Science. (EE.UU.) 46(2): 155-160.
12. PATER, B. 1977. Arcollaborative study of the delvotest-p method to detect low concentrations of penicillin in milk. Journal of Dairy Science. (EE.UU.) 40(1): 23-27.
13. PELEZAR, J. M; REID, R.D; CHAN.E.C.S. 1982. Microbiología. Trad. por Antonio Cepella Bustos. Mexico, Mc Graw-Hill. p.410.
14. SASCHOWN, W. M; BURNS, C. M. 1993. Field trial of four cowside antibiotic residue screening tests. Journal of the American Veterinaries Medical Associon. (EE.UU.) 202(4):1249-1251.
15. SEYMOUR, E. H.; JONES.G.M; MCGILLIARD. M. L. 1988. Comparison of on-farm screening tests for detection of antibiotic residues. Journal of Dairy Science. (EE.UU.) 71(2): 539-544.



16. STOUT, J.D. 1996. Milk sampling techniques fr DHIA and laboratory tests. INTERNET. EE.UU., s.n. p. 4273.1-4273.2.
17. SYMPOSIUM ANIMAL DRUG USE. (1987, WASHINGTON. D. C.). 1987. Positive aspects of animal drug use in food animal production. Ed. by G. BERAN. Washinton, s. n. p.1-14.
18. TYBOR, P. T; GILSON. W. 1993. Dairy producers guide to food safety in milk production collection. Food safety and Quality. INTERNET. EE.UU., s.n. p. 1- 11.
19. TYLER, J. W. et al. 1992. Milk antimicrobial drug residue assay results in cattle with experimental, endotoxina-induced mastitis. Journal of the American Veterinarian Medical Asociacion (EE.UU) 201(40):1378-1484.
20. VAN GENENNAAM et al. 1993. Antibiotic residue screening assays. Journal of Dairy Science (EE.UU) 76(10): 3050-3053.



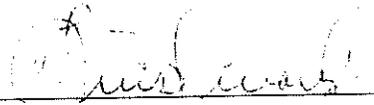
Br. Jorge Arturo Serrano Villanueva



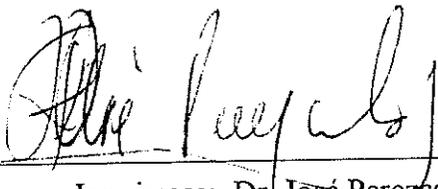
Dr. Mario Augusto Ramirez
ASESOR PRINCIPAL



Dr. Carlos José Lanza



Dr. Luis Arturo Linares



Imprimase: Dr. José Pérezcanto
Decano

