UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASABRE GROHMANN

FACULTAD DE CIENCIAS

Escuela Profesional de Biología Microbiología

Residuos de antibióticos en leche de vaca comercializada en el FONGAL, Tacna

TESIS

Presentada por:

Bach. Piero David Lovera Arcos

Para optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO MICROBIÓLOGO

TACNA-PERÚ

2026

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS Nro. 470

En la ciudad de Tacna, en el auditórium de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; siendo las 9.00 horas del día Viernes 3 de julio del 2026, estando presente el jurado calificador nominado con Resolución de Facultad Nro. 1812 - 2026 FACI-UNJBG, conformado por los siguientes docentes:

Dra. Angela Veronica Chaque Miranda (Presidente)
Msc. Victor Hugo Carbajal Zegarra. (Secretario)
Dr. Cesar Julio Cáceda Ruiroz (Vocal)

Acto seguido, se dio lectura a la Resolución correspondiente, y del mismo modo se informa a la (al) Bachiller que el acto de sustentación constará de dos partes: (I) exposición y sustentación de la tesis, (II) absolución de preguntas del jurado. Todo ello en un tiempo no mayor a 60 minutos ni menor a 30 minutos. A continuación, el presidente del Jurado instó a la (al) Bachiller:

Piero David Lovera Arcos.,

a exponer la Tesis titulada:

Residuos de antibióticos en leche de vaca comercializada en el FONGAL, Tacna,

para optar el Título Profesional de Biologo Microbiologo.

Siendo las 10. am horas, la (el) tesista concluye su exposición, luego se procedió a la formulación de las preguntas por parte de los miembros del jurado calificador, terminado este proceso, se invitó al público presente a abandonar la sala de sustentación para que los miembros del jurado emitan su calificación de acuerdo a reglamento. El promedio de la calificación dio el siguiente resultado: Aprobado con nota sobresaliente con nota de 18, de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna.

Siendo las 10.30 am horas, se dio por concluido el acto de sustentación de la tesis, firmando los miembros del jurado calificador, en señal de conformidad.

Dra. Angela Chaque Miranda
Presidente

Msc. Victor Carbajal Zegarra
Secretario

Dr. Julio Cáceda Ruiroz
Vocal

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo **César Julio Cáceda Quiroz** en mi condición de asesor acreditado **CERTIFICO** que, la tesis titulada **"Residuos de antibióticos en leche de vaca comercializada en el FONGAL, Tacna"**, desarrollado por el **Bach. Piero David Lovera Arcos**, para optar el Título Profesional de **Biólogo Microbiólogo**.

Que, conforme al análisis de originalidad y de similitud de trabajos de investigación y producción intelectual de la **UNJBG**, mediante el software de similitud textual **TURNITIN**, se obtiene los siguientes resultados:

Código de identificación de reporte oid: **23228:608212644**

Porcentaje de similitud: **5%**

Nivel: **Permitido**

Por lo que **CERTIFICO QUE LA SIMILITUD** de la Tesis está de acuerdo con el nivel **PERMITIDO**. El tesista puede continuar con el proceso de su trámite para obtención de su título profesional.

Se emite el presente certificado para los fines correspondientes.

Bach. Piero David Lovera Arcos
Autor

Dr. César Julio Cáceda Quiroz
Asesor





DEDICATORIA

Dedico este trabajo de todo corazón:

A mis padres y familia, por ser el motor de mi vida y enseñarme el valor de la perseverancia.

A quienes formaron y forman parte de mi historia; tanto a las personas que estuvieron antes como a las que están ahora, gracias por coincidir conmigo y apoyarme en su momento.

A mis amigos, los de verdad, los que no me dejaron atrás cuando tropecé. Su empuje fue clave para levantarme con más fuerza y terminar esta tesis.

Y a Samus, mi gata y compañera de vida durante ya 10 años, por tus ronroneos reconfortantes en cada jornada de estudio y por ser mi cable a tierra cuando todo se ponía difícil.

AGRADECIMIENTOS

La culminación de este trabajo de investigación es el resultado del esfuerzo, la guía y el apoyo constante de valiosas personas e instituciones a quienes deseo expresar mi más sincero agradecimiento.

A la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann y a la Facultad de Ciencias, por abrirme las puertas al conocimiento científico y profesional.

Al Dr. César Julio Cáceda Quiroz, mi asesor de tesis, por guiarme con su experiencia y por ese gran aporte en conocimientos y metodologías que me ayudó a enfocar mejor esta investigación en los momentos clave. A los profesores de mi facultad, por sembrar en mí la rigurosidad y pasión por la ciencia.

Un agradecimiento enorme a la familia del laboratorio Biodiagnostik, por su calidez y respaldo. De manera muy particular, al Biólogo Christian Alexander Falla Concha y al Sr. Ron Gary Rios Morales, por su inmensa generosidad al compartir su laboratorio para el desarrollo de esta tesis y por estar siempre presentes con su apoyo constante y desinteresado.

Asimismo, hago extensivo mi agradecimiento a mis jefes en mis antiguos puestos de trabajo por cada una de las enseñanzas que me brindaron en el camino, así como a los distintos compañeros de labores con quienes compartí el día a día. Sus consejos, el aprendizaje mutuo y la confianza depositada en mí fueron pilares invaluables para mi crecimiento tanto personal como profesional.

Finalmente, dedico unas líneas de profundo agradecimiento a mis allegados y amigos cercanos. Gracias por ser mi mayor red de apoyo

Contenido

Resumen....1

Introducción....2

CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA....5

1.1. Descripción del problema....5

1.2. Definición y delimitación del problema....6

1.3. Justificación....6

1.4. Antecedentes....7

Antecedentes Internacionales....7

Antecedentes Nacionales....10

Antecedentes Locales....11

1.5. Formulación del problema....11

1.6. Hipótesis....12

1.7. Objetivos....12

Objetivo General....12

Objetivos Específicos....12

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO....13

2.1. Generalidades de los antibióticos en veterinaria....13

Definición y origen biológico....13

Clasificación por mecanismo de acción....13

Clasificación por espectro de acción....14

2.2. Fisiología de la glándula mamaria y transferencia de fármacos....15

Anatomía funcional del alvéolo mamario en vacas lecheras. 15

Lactogénesis y rutas de excreción..... 17

La barrera hemato-mamaria: Mecanismos de transporte de moléculas. 20

Regulación fisiológica y dinámica de la BHM. 22

Factores fisicoquímicos: Liposolubilidad, pKa y grado de ionización. 23

2.3. Farmacocinética de antibióticos..... 25

Vías de administración en ganado lechero..... 25

Metabolismo en el organismo animal. 29

Excreción láctea y cinética de eliminación. 31

2.4. Familias de antibióticos en estudio 34

β-lactámicos 34

Tetraciclinas 39

Sulfonamidas..... 42

2.5. Calidad e Inocuidad Alimentaria de la Leche 44

Propiedades físico-químicas de la leche bovina. 44

Límites Máximos de Residuos (LMR) según Codex Alimentarius, FDA y normativa peruana (MINSA/DIGESA). 45

Resistencia a antibióticos y salud pública..... 46

2.6. Detección de Residuos mediante inmunocromatografía..... 47

Fundamento de la inmunocromatografía competitiva de flujo lateral. 47

Principio operativo del formato competitivo por inhibición..... 49

Uso de oro coloidal como marcador en ensayos de screening..... 51

Sensibilidad y especificidad del Kit Bioeasy 3 en 1. 52

CAPÍTULO III MARCO METODOLÓGICO 54

3.1. Tipo y nivel de investigación. 54

3.2. Ámbito de estudio 54

3.3. Población y muestra 55

3.4. Materiales y equipos. 56

3.5. Procedimiento experimental 57

Preparación de la muestra de leche cruda. 57

Protocolo de incubación y activación del kit. 57

Interpretación visual de resultados (T1, T2, T3) 58

Protocolo de análisis y criterios de interpretación 59

3.6. Análisis estadístico 60

Determinación del intervalo de Confianza Estándar de Wilson (Newcombe, 1998) 61

CAPÍTULO IV RESULTADOS 62

4.1. Análisis descriptivo de la presencia de residuos en las muestras recolectadas. 62

4.2. Prevalencia de residuos por familia de antibiótico 63

CAPÍTULO V DISCUSIÓN 66

CAPÍTULO VI CONCLUSIONES 73

RECOMENDACIONES 74

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 75

ANEXOS 81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 *Estructura anatómica y celular del alveolo mamario* 15

Figura 2 *Anatomía interna de la glándula mamaria y diagrama del sistema de conductos y cisternas en rumiantes* 16

Figura 3 *Vías somatosensoriales y mecanismo neuroendocrino del reflejo de secreción de prolactina inducido por la succión* 18

Figura 4 *Organización subcelular del epitelio alveolar mamario y mecanismos de secreción de componentes lácteos* 19

Figura 5 *Configuración típica de una tira reactiva de inmunoensayo de flujo lateral* 49

Figura 6 *Inmunoensayo competitivo en fase sólida* 50

Figura 7 *Patrones de lectura para la detección rápida de ß-lactámicos, sulfonamidas y tetraciclinas* 59

Figura 8 *Prevalencia de residuos de antibióticos en muestras de leche* 62

Figura 9 *Distribución de residuos según familia de antibióticos y casos de uso doble de antibióticos* 65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 *Clasificación de antibióticos ß-lactámicos en bovinos, vías de administración y tiempos de retiro en leche.*.....38

Tabla 2 *Antibióticos tetraciclinas administrados en bovinos, vías de administración y tiempos de retiro en leche.* 41

Tabla 3 *Antibióticos sulfonamidas administrados en bovinos, vías de administración y tiempos de retiro en leche.* 43

Tabla 4 *Composición de la leche en distintas especies* 45

Tabla 6 *Criterios de interpretación de resultados según sus réplicas de ensayo* 60

Tabla 7 *Frecuencia general de muestras con residuos antibióticos*. 62

Tabla 8 *Prevalencia de residuos de antibióticos por familia en muestras de leche cruda* 64

Tabla 9 *Frecuencia y patrones de co-ocurrencia de residuos de antibióticos en las muestras analizadas*.....64

RESUMEN

La presencia de residuos de antibióticos en la leche, es un problema de salud pública que viene en crecimiento por las malas prácticas de ganadería, a su vez, esto desencadena un desarrollo a la resistencia antimicrobiana. El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de residuos de antibióticos específicamente de las familias ß-lactámicos, sulfonamidas y tetraciclinas en leche cruda de vaca comercializada en el FONGAL Tacna, esto mediante ensayos de inmunocromatografía con tira reactiva parte del Kit de detección rápida Bioeasy 3 en 1. Para ello se analizaron 30 muestras recolectadas, aplicando un riguroso protocolo de réplicas por duplicado para evitar los falsos positivos. El análisis estadístico fue descriptivo empleándose el Método de puntuación de Wilson Estándar (Newcombe, 1998), el cual es apropiado para realizar la estadística descriptiva para muestras pequeñas.

Los resultados de la prevalencia general de residuos de antibióticos fueron del 46,67% con un Intervalo de Confianza al 95%: entre 30,24% y 63,86%. Mientras que la familia de mayor prevalencia fue las Sulfonamidas, estando presente en el 46,67% del total de las muestras, seguidas por la presencia de ß-lactámicos de forma simultánea con las Sulfonamidas, lo cual sugiere que se está aplicando un uso combinado de antibióticos.

Esto evidencia de manera urgente la necesidad de implementar sistemas de vigilancia sanitaria en los centros de acopio y comercialización de leche cruda, a fin de evitar la distribución masiva de alimentos contaminados que perpetúen el desarrollo de resistencia antimicrobiana y vulneren la salud del consumidor.

Palabras clave: Residuos de antibióticos, leche cruda, resistencia antimicrobiana, prevalencia, inmunocromatografía.

INTRODUCCIÓN

En el Perú, la leche de vaca constituye un insumo estratégico para la seguridad alimentaria y el desarrollo neonatal, consolidándose como un componente fundamental en la dieta diaria de la población. Debido a su alto valor nutricional, el Estado peruano prioriza su distribución masiva a través de programas de asistencia social, como el Programa del Vaso de Leche, enfocado en salvaguardar la nutrición de la población infantil vulnerable. Sin embargo, esta masificación en el consumo exige un control riguroso de su inocuidad, ya que cualquier fallo en la cadena productiva impacta de manera directa en la salud pública (Suárez, 2003).

Sin embargo, entre los principales factores de riesgo asociados a la calidad alimentaria e inocuidad de la leche cruda se encuentra la presencia de residuos de antibióticos (Aguilar, 2020). El uso de estos fármacos en la medicina veterinaria es una práctica necesaria para el manejo de enfermedades infecciosas como la mastitis bovina. El problema principal es cuando los animales tratados son ordeñados sin cumplir rigurosamente los periodos de retiro establecidos por el fabricante, por lo que los residuos de estos fármacos ingresan directamente al organismo humano (Aguilar, 2020). La ingesta de estos residuos en concentraciones que no representan un daño a los microorganismos, es un mecanismo de selección de resistencia bacteriana en la microbiota humana y animal, constituyendo, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), una de las mayores amenazas para la salud pública mundial en la actualidad (FAO, 2021).

En respuesta a esta problemática muchas entidades internacionales, tales como el *Codex Alimentarius,* la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), han fijado los Límites Máximos de Residuos (LMR) para la presencia de antibióticos en leches. En el Perú, el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) es el organismo encargado de fiscalizar el correcto uso de los fármacos veterinarios y asegurar el cumplimiento de sus respectivos periodos de retiro. Mientras que los encargados

de imponer los LMR en Perú es la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), quien presenta una lista de LMR permisibles en leche, y de los fármacos que no se mencionen, se considera con base en las normativas internacionales (Ministerio de Salud, 2016).

Dentro del espectro de medicamentos veterinarios, las familias de los β-lactámicos y las sulfonamidas representan los grupos de mayor uso y abuso en el sector ganadero debido a su bajo costo y eficacia contra la mastitis y afecciones respiratorias (Gálvez, 2011). El riesgo crítico actual no solo radica en la presencia aislada de estos fármacos, sino en el fenómeno de doble presencia, es decir, la presencia simultánea de residuos de ambas familias en una misma muestra de leche como los resultados obtenidos de Aguilar (2020) y Haseeb (2023). Esta doble contaminación suele ser el resultado de terapias combinadas empíricas en el campo, lo que altera los mecanismos de excreción renal del animal, prolonga los periodos de carencia tradicionales y potencia el riesgo de selección de bacterias multirresistentes en el consumidor (Sumano et al., 2015).

En la región de Tacna, la centralidad del consumo de leche fresca y el impacto de los programas sociales convergen en el Fondo de Ganadería Lechera (FONGAL). Este establecimiento se erige como el principal núcleo de acopio y distribución láctea regional, centralizando la producción de ganaderos provenientes de las zonas de La Yarada, Ite, Locumba y Sama (Radio Uno, 2017). Asimismo, el FONGAL actúa como proveedor de entidades públicas de la región, habiendo suscrito órdenes de compra con el Gobierno Regional de Tacna a través del Hospital Hipólito Unanue y con las municipalidades distritales de Alto de la Alianza y Ciudad Nueva en el año 2019 (Organismo Supervisor de las Contrataciones del Estado, 2019), lo que evidencia su rol estratégico en el abastecimiento institucional y social de productos lácteos en la región, además de abastecer de forma directa el mercado informal de leche cruda que consume la mayor parte de la población tacneña.

La vulnerabilidad de este centro de distribución ya ha sido alertada previamente. Un estudio realizado por Gálvez (2011) en el propio FONGAL reportó una positividad del 18,7% a sustancias antimicrobianas mediante la técnica de TTC, advirtiendo que la mayoría de los productores desconocía los periodos de retiro (Gálvez, 2011). Años más tarde, Aguilar (2020) identificó residuos de antibióticos en el 30% de muestras de leche cruda comercializada en diversos puntos de venta del distrito de Tacna (Aguilar, 2020).

Por lo tanto, el presente estudio tuvo como propósito determinar la prevalencia de residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en el FONGAL durante el año 2025, identificar las familias de antibióticos involucradas y analizar los patrones de co-ocurrencia observados, con el fin de aportar evidencia científica actualizada que sirva como referencia urgente para las autoridades sanitarias, los productores ganaderos y la comunidad de la región de Tacna.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.Descripción del problema

La leche de vaca es uno de los alimentos más consumidos a nivel mundial y, debido a su alta demanda, su producción es fundamental en la industria agropecuaria. Para satisfacer la demanda global, es necesario contar con una amplia red de producción, lo que incrementa la susceptibilidad del ganado a contraer enfermedades. A lo largo del tiempo, diversas enfermedades afectaron la producción lechera, lo que llevó a la implementación de antibióticos como una solución efectiva para el tratamiento de infecciones en los animales.

Sin embargo, desde el inicio del uso de estos fármacos en la ganadería, surgió la preocupación por sus posibles efectos en la salud humana. Como respuesta, distintas entidades internacionales, como el *Codex Alimentarius*, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA), han establecido regulaciones estrictas sobre el uso de antibióticos en animales destinados a la producción de alimentos (FAO, 2021). A nivel nacional, en Perú, el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) regula el uso de estos compuestos, estableciendo límites máximos de residuos (LMR) en la leche y la carne, así como el período de retiro necesario antes de que los productos puedan ser comercializados (SENASA, 2014).

No obstante, en muchos países de América del Sur, los controles sobre el uso de antibióticos en la ganadería no son lo suficientemente rigurosos (Aguilar, 2020). En algunas regiones, se ha reportado la administración de estos fármacos sin supervisión del profesional encargado (Gálvez, 2011), esto incurre en el incumplimiento de las dosis requeridas, lo que puede generar la acumulación de residuos en la carne y la leche producida (Aguilar, 2020). El consumo de estos residuos por parte de los seres humanos puede ser perjudicial, ya que está

relacionado con la aparición de resistencia bacteriana, un problema de salud pública de gran preocupación a nivel mundial (Gálvez, 2011).

1.2.Definición y delimitación del problema

El presente estudio se llevó a cabo en la ciudad de Tacna durante un periodo de cuatro meses, en los cuales se procesaron las muestras de leche cruda obtenidas del FONGAL. Las muestras fueron recolectadas en distintas semanas y en horario diurno, momento en el que principalmente ocurre el proceso de compra por parte de la población. Se utilizó el test Bioeasy 3 en 1 BST para la detección de residuos de antibióticos en leche de vaca. La investigación se enfocó exclusivamente en leche cruda, sin incluir productos derivados como queso o yogur. Además, no se evaluaron otros contaminantes como metales pesados o residuos químicos distintos a los antibióticos.

1.3.Justificación

La leche constituye uno de los principales alimentos de la dieta diaria de la población tacneña, consumida en gran medida en los hogares como parte de las comidas habituales. En este contexto, el FONGAL representa el principal centro de acopio y comercialización de leche en la ciudad, por lo que resulta de gran importancia asegurar la inocuidad de este producto.

El consumo de leche que contiene residuos de antibióticos representa un riesgo para la salud pública, tal como lo advierte la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), al señalar que la ingesta indirecta de antibióticos en diferentes concentraciones contribuye al incremento de la resistencia antimicrobiana (FAO, 2021). Este problema constituye una de las principales amenazas sanitarias a nivel mundial, dado que cada año se reporta una creciente resistencia de las bacterias a los antibióticos, afectando por igual a todos los consumidores (FAO, 2021).

En el Perú, aún existe poca información científica sobre la calidad e inocuidad de la leche. A diferencia de otros países, en Sudamérica la inocuidad alimentaria no se considera como un eje prioritario, lo que genera vacíos de conocimiento en temas cruciales como la presencia de residuos de antibióticos en alimentos de consumo masivo. La presente investigación pretende aportar evidencia en este campo, identificando la posible presencia de residuos en la leche comercializada en FONGAL Tacna, de acuerdo con las normativas nacionales e internacionales que establecen límites máximos permisibles.

Desde el punto de vista práctico, los resultados de este estudio sirven como antecedente para investigaciones posteriores, ya que la metodología utilizada permitió determinar de manera cualitativa la presencia o ausencia de residuos, lo que abre la posibilidad de estudios futuros orientados a cuantificar concentraciones específicas y determinar los antibióticos presentes. Asimismo, estos resultados constituyen una referencia útil para productores, autoridades sanitarias y consumidores, contribuyendo a la protección de la salud pública y a la mejora de los sistemas de control de calidad en la producción y comercialización de leche en Tacna.

1.4.Antecedentes

Antecedentes Internacionales

En el estudio titulado *"Evaluación de la presencia de residuos de antibióticos y quimioterapéuticos en leche en Jalisco, México",* se analizaron muestras de leche de vaca mediante las pruebas de Inhibición del Yogurt, Twin Sensor y HPLC de fase reversa. Encontraron que el 9,8% de las muestras totales de la prueba del yogurt fueron positivas a la contaminación con antimicrobianos, en leche pasteurizada el 13,8% de muestras fueron positivas a la presencia de antimicrobianos y la leche cruda el porcentaje de muestras positivas a la presencia de antimicrobianos fue inferior al 5% (Noa et al., 2009).

En Turquía, en el estudio titulado *"Determinación de antibióticos y sus metabolitos en leche mediante el método de cromatografía de líquidos-espectrometría de masas en tándem"*, se investigó la presencia de residuos de antibióticos en leche de vaca cruda, leche de cabra cruda y leche tratada térmicamente, utilizando espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida. Del total de muestras, obtuvieron que el 55,38% de muestras dieron positivo a la presencia de antibióticos. Asimismo, concluyeron que una gran parte de los productores no cumple con las buenas prácticas en el uso de antibióticos en el ganado lechero, lo que representa un riesgo para la salud pública (Tasci et al., 2021).

En el estudio titulado *"Residuos de antibióticos y bacterias resistentes a los antibióticos detectados en leche comercializada para consumo humano en Kibera, Nairobi",* se cuantificó la presencia de residuos de antibióticos en leche pasteurizada y no pasteurizada, así como bacterias resistentes en leche no pasteurizada. Se utilizaron los kits IDEXX SNAP para detectar residuos de ß-lactámicos y tetraciclinas, y agar MacConkey con y sin antibióticos para evaluar resistencia bacteriana. Encontraron residuos en el 7,4% y 3,2% de las muestras para ß-lactámicos y tetraciclinas, respectivamente, con mayor prevalencia en leche no pasteurizada (23,8%) que en la pasteurizada (6,8%). Además, el 66,7% de las muestras no pasteurizadas contenía *Escherichia coli*, de las cuales el 92,8% era resistente a ampicilina y el 50% a tetraciclina, evidenciando un potencial riesgo para la salud pública (Brown et al., 2020).

En Ecuador, en el estudio titulado *"Determinación de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en la leche cruda comercializada"*, se utilizó un test rápido de detección de tetraciclinas y ß-lactámicos para analizar muestras de leche de vaca comercializada. Los resultados indicaron que el 26% de muestras contenían residuos de antibióticos, lo que refleja la presencia de leche contaminada en el mercado. Además, se informó que en el país se vende leche "al balde", un producto que carece de control de calidad, lo que aumenta el riesgo de contaminación y adulteraciones en la leche (Caracundo, 2019).

En Rumania, en el estudio titulado *"Identificación de residuos de antibióticos en muestras de leche cruda provenientes del área metropolitana de Bucarest"*, se analizaron 210 muestras de leche cruda, de las cuales provenían de productores primarios y de procesadores de leche. Utilizaron el método Combo Beta Star, basado en reacciones químicas con reactivos conjugados a partículas de oro, para la detección de residuos de antibióticos. Identificaron contaminación en 61,43% de muestras. Los residuos detectados incluían tetraciclinas y β-lactámicos, atribuidos al uso de estos antibióticos en el tratamiento de enfermedades mamarias en el ganado (Pogurschi et al., 2015).

En el estudio titulado *"Antibióticos en leche fresca bovina y el riesgo para la salud humana en Chitré, Panamá"*, analizaron la presencia de residuos de antibióticos en la leche fresca bovina suministrada por proveedores de algunas queserías. La investigación se desarrolló empleando la prueba *SNAP duo ST Plus* para el análisis de las muestras, además de la aplicación de encuestas a los productores sobre su conocimiento respecto al uso de fármacos y entrevistas a expertos en salud. Los resultados indicaron que el 100% de las muestras dieron negativo, concluyendo así que la leche fresca utilizada para la elaboración de quesos en dicha localidad se encontraba libre de residuos de antibióticos (De León & Camarena, 2025).

En el estudio del 2017 titulado "*Determinación de residuos de antibióticos ß-lactámicos en leche cruda comercializada en cuatro ciudades del Departamento Central, República del Paraguay*", se determinó la presencia de residuos de antibióticos β-lactámicos en muestras de leche cruda comercializadas. El análisis fue realizado utilizando la prueba de detección BetaStar 100, obteniéndose como resultado que el 97% de las muestras fueron negativas para dichos residuos (Sandoval et al., 2017).

Antecedentes Nacionales

En el estudio titulado *"Frecuencia de ß-lactámicos y tetraciclinas en leche fresca en la cuenca de Arequipa*", se analizaron muestras de leche fresca contaminada con antibióticos, de las cuales el 16,07% presentaban residuos de antibióticos. Se encontró una frecuencia de contaminación del 88,8% para β-lactámicos y del 61,6% para tetraciclinas, evidenciando que los antibióticos β-lactámicos representan una importante fuente de contaminación en la leche fresca de esta región (Ortiz et al., 2008).

En Arequipa, en el estudio titulado *"Recuento de células somáticas en leche contaminada con residuos de antibióticos"*, se evaluaron muestras de leche de vaca fresca mediante la metodología de recuento de células somáticas (RCS), encontrando que el 3,25% de las muestras estaban contaminadas con residuos de antibióticos (Ortiz et al., 2011).

En Lima, en el estudio titulado *"Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos mediante un ensayo inmunoenzimático en leche de vacas tratadas contra mastitis"*, se recolectaron las muestras tres días después del tratamiento para evaluar la persistencia de residuos de antibióticos, encontrando que el 45% de las muestras procesadas dieron positivo a residuos de antibióticos ß-lactámicos (Salas et al., 2013).

En el estudio titulado *"Determinación de residuos de antibióticos (sulfamidas, quinolonas y aminoglucósidos) en la leche cruda en los distritos de Pichigua y Pomacanchi de la región de Cusco"*, se evaluaron muestras de leche cruda mediante los kits ECLIPSE 100, SulfaSensor, QuinoSensor y 3AminoSensor. Se halló contaminación en el 12% de las muestras de Pichigua y el 31% de Pomacanchi. En Pichigua, los residuos correspondieron a sulfonamidas (1%), quinolonas (3%) y aminoglucósidos (12%), mientras que en Pomacanchi las frecuencias fueron más elevadas: 26%, 14% y 21%, respectivamente. Estos resultados

indican una mayor presencia proporcional de residuos de antibióticos en la leche cruda de Pomacanchi (Matheus, 2023).

En el estudio titulado *"Evaluación de la presencia de residuos de antibióticos en leche cruda acopiada y del plan de control en la región Cajamarca"*, se realizó un análisis recopilatorio durante un periodo de siete años que abarcó diez provincias. Se determinó que la provincia de Cajamarca registró el mayor porcentaje de pérdidas de leche debido a este problema, alcanzando un 60,04%, lo que evidencia un impacto significativo en la producción lechera de la región (De la Flor, 2024).

Antecedentes Locales

En Tacna, se presentó el estudio "*Residuos de antibióticos en leche cruda de vaca comercializada y su relación con las características fisicoquímicas en el distrito de Tacna*", en el que analizó 20 muestras de leche de vaca cruda. Sus hallazgos indicaron que el 30% de las muestras presentaban residuos de antibióticos, lo que evidencia la necesidad de fortalecer los controles sanitarios en la leche comercializada en la región (Aguilar, 2020).

Por otro lado, en el estudio del 2011 titulado *"Residuos antimicrobianos en leche bovina de los proveedores de FONGAL - Tacna"*, se evaluó la calidad de la leche de vaca cruda. Utilizando la metodología establecida en la Norma Técnica Peruana NTP 202.107, basada en el uso de cloruro de trifeniltetrazolio (TTC), se analizaron las muestras correspondientes, obteniéndose como resultado que el 18,68% de ellas dieron positivo a la presencia de antimicrobianos (Gálvez, 2011).

1.5.Formulación del problema

En la ciudad de Tacna, la comercialización de leche cruda de vaca es una práctica común en distintos mercados. Uno de los puntos de venta más conocidos es FONGAL, un establecimiento reconocido por la venta de leche cruda. Un estudio realizado en Tacna por

Gálvez (2011) evaluó la calidad de la leche vendida por los proveedores de FONGAL utilizando el método de coloración por TTC (Cloruro de Trifeniltetrazolio). Los resultados indicaron que el 18,7% de las muestras analizadas dieron positivo a la presencia de sustancias antimicrobianas, lo que sugiere un posible uso inadecuado de antibióticos en el ganado lechero. Además, el estudio concluyó que la mayoría de los proveedores de leche desconocían el período de retiro necesario tras la administración de antibióticos, lo que podría incrementar el riesgo de residuos en la leche comercializada.

El presente trabajo de investigación determinó la presencia de residuos de antibióticos en leche, por los que en el siguiente trabajo se planteó el siguiente problema:

¿Tuvo la leche de vaca fresca expendida en el FONGAL presencia de residuos de antibióticos?

1.6.Hipótesis

- Las muestras recolectadas de leche fresca en el FONGAL de venta tendrán la presencia de antibióticos.

1.7.Objetivos

Objetivo General

- Determinar la presencia de residuos de antibióticos en la leche de vaca comercializada en el FONGAL en Tacna mediante ensayos de detección rápida.

Objetivos Específicos

- Determinar la presencia de residuos de antibióticos en muestras de leche cruda utilizando el kit Bioeasy mediante ensayo inmunocromatográfico tipo tira reactiva.
- Identificar las familias de antibióticos presentes en las muestras analizadas mediante el kit Bioeasy.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Generalidades de los Antibióticos en Veterinaria

Definición y origen biológico

Los antibióticos son sustancias derivadas de diversas especies de microorganismos, los cuales poseen la capacidad de inhibir el crecimiento de otros microorganismos o, en su defecto, eliminarlos. Estas sustancias derivan principalmente de bacterias capaces de producir metabolitos con función antibacteriana; sin embargo, el caso más emblemático corresponde a Alexander Fleming en el año 1929, tras el descubrimiento de la penicilina proveniente del género de hongos llamado *Penicillium* (Sumano et al., 2015). A su vez, se consideran también los antibióticos sintéticos, tales como las sulfonamidas, los cuales se identifican como parte de los primeros antibióticos que surgieron antes de 1940 (Coello-Cedeño, 2021).

Clasificación por mecanismo de acción

De acuerdo con Sumano et al. (2015), los agentes antibacterianos se categorizan en cuatro grupos principales basándose en el sitio blanco de la célula bacteriana donde ejercen su actividad metabólica:

a) Alteración de la pared celular: El antibiótico se une a proteínas específicas durante la síntesis de la pared bacteriana. Esto resulta en la formación de una estructura incompleta que pierde su permeabilidad selectiva, conduciendo finalmente a la lisis osmótica de la célula. Posee un efecto bactericida y presenta mayor eficacia en bacterias grampositivas, debido a que su pared de peptidoglicano es más gruesa, aunque menos compleja que la de las gramnegativas.
b) Daño a la membrana citoplasmática: Estos agentes actúan como tensioactivos o detergentes que alteran la configuración física y la función de la membrana. Al

alterar la bicapa lipídica, se pierde la homeostasis, generando un efecto bactericida. Este mecanismo es particularmente efectivo en bacterias gramnegativas.

c) Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos o daño al ADN/ARN: Los fármacos se unen a enzimas específicas e inhiben la replicación o transcripción del material genético, ejerciendo un efecto bactericida. Un caso particular son las sulfonamidas, que actúan como análogos estructurales del ácido paraaminobenzoico (PABA), precursor del ácido fólico necesario para la síntesis de nucleótidos. Al bloquear esta vía metabólica, detienen el crecimiento bacteriano, produciendo un efecto bacteriostático.

d) Inhibición de la síntesis proteica: Este mecanismo impide la correcta unión del ARN con los ribosomas, bloqueando la traducción de proteínas esenciales. Generalmente produce un efecto bacteriostático. En este grupo se encuentran las tetraciclinas, macrólidos, tiamulina, lincosamidas, fenicoles y aminociclitoles.

Clasificación por espectro de acción.

Los antibióticos se pueden clasificar según su eficacia clínica, esto relacionado con el espectro de los microorganismos inhibidos, por lo que se dividen (Sumano et al., 2015):

a) Espectro amplio: Son aquellos que actúan sobre las bacterias gramnegativas y grampositivas, y sobre organismos como hongos y rickettsias.
b) Espectro intermedio: Son aquellos que tienen acción contra diversa cantidad de bacterias, pero no abarca la mayor parte de los gramnegativos y grampositivos a la vez.
c) Espectro reducido: Son aquellos que actúan sobre unos cuantos microorganismos tanto grampositivos y gramnegativos.

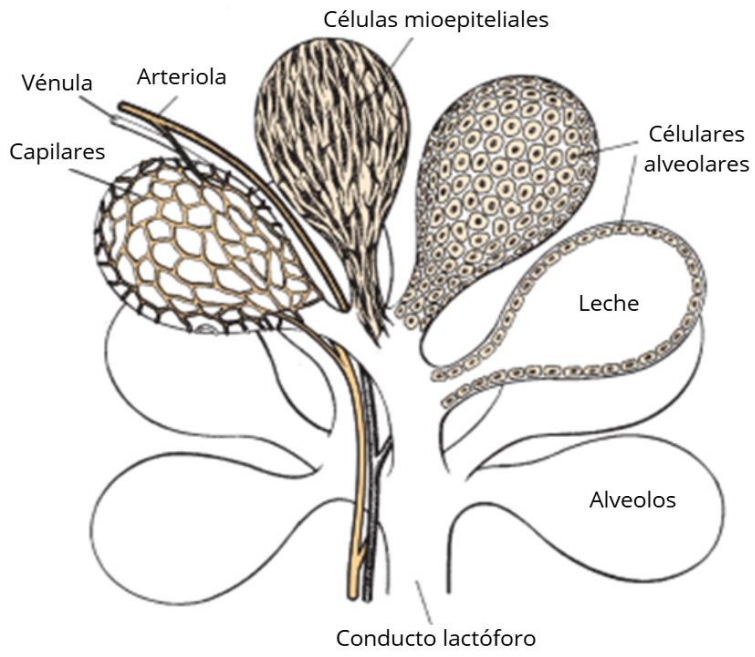
2.2. Fisiología de la Glándula Mamaria y Transferencia de Fármacos

Anatomía funcional del alvéolo mamario en vacas lecheras.

El alvéolo es la unidad fundamental y anatómico-funcional encargada de la síntesis y de la secreción láctica en el ganado bovino (Davidson & Stabenfeldt, 2020). Estructuralmente, estas unidades son sacos huecos de tamaño microscópico con una forma entre esférica y ovoide (Akers & Denbow, 2025). Las paredes internas de cada alvéolo se conforman principalmente por una capa de células epiteliales (Reece & Rowe, 2017).

Figura 1

Estructura anatómica y celular del alveolo mamario



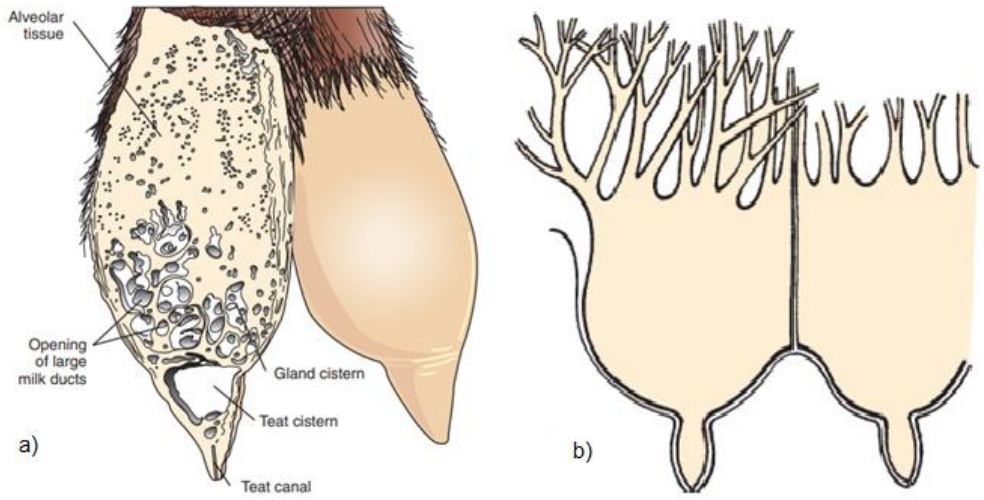
Nota. El diagrama ilustra el parénquima glandular organizado en racimos de alvéolos, los cuales constituyen las unidades fundamentales de secreción de leche de la glándula mamaria. Se aprecia la capa simple de células epiteliales que forman estas estructuras huecas y su íntima relación con la red de capilares sanguíneos (arteriolas y vénulas). Extraído de Klein, (2020).

En el centro de esta organización celular se localiza un espacio hueco denominado lumen alveolar (Reece & Rowe, 2017). La leche secretada se almacena temporalmente dentro de este espacio (Davidson & Stabenfeldt, 2020). En la superficie externa del epitelio se disponen células mioepiteliales con capacidad contráctil (Akers & Denbow, 2025). La contracción de estas células en respuesta a estímulos neuroendocrinos facilita la eyección de la leche hacia el sistema de conductos (Davidson & Stabenfeldt, 2020).

Los alvéolos se encuentran organizados en pequeños grupos o racimos llamados lobulillos (Reece & Rowe, 2017). Finalmente, la agrupación de estos lobulillos da lugar a la formación de lóbulos (Akers & Denbow, 2025).

Figura 2

Anatomía interna de la glándula mamaria y diagrama del sistema de conductos y cisternas en rumiantes



Nota. a) Representación anatómica de una ubre, donde una sección transversal expone el tejido alveolar denso, la cisterna de la glándula con las aperturas de los grandes conductos galactóforos, la cisterna del pezón y el canal del pezón. b) Diagrama esquemático del sistema de conductos mamarios y la disposición de las cisternas características en rumiantes. Adaptado de Cowie (1984), extraído de Klein, 2020.

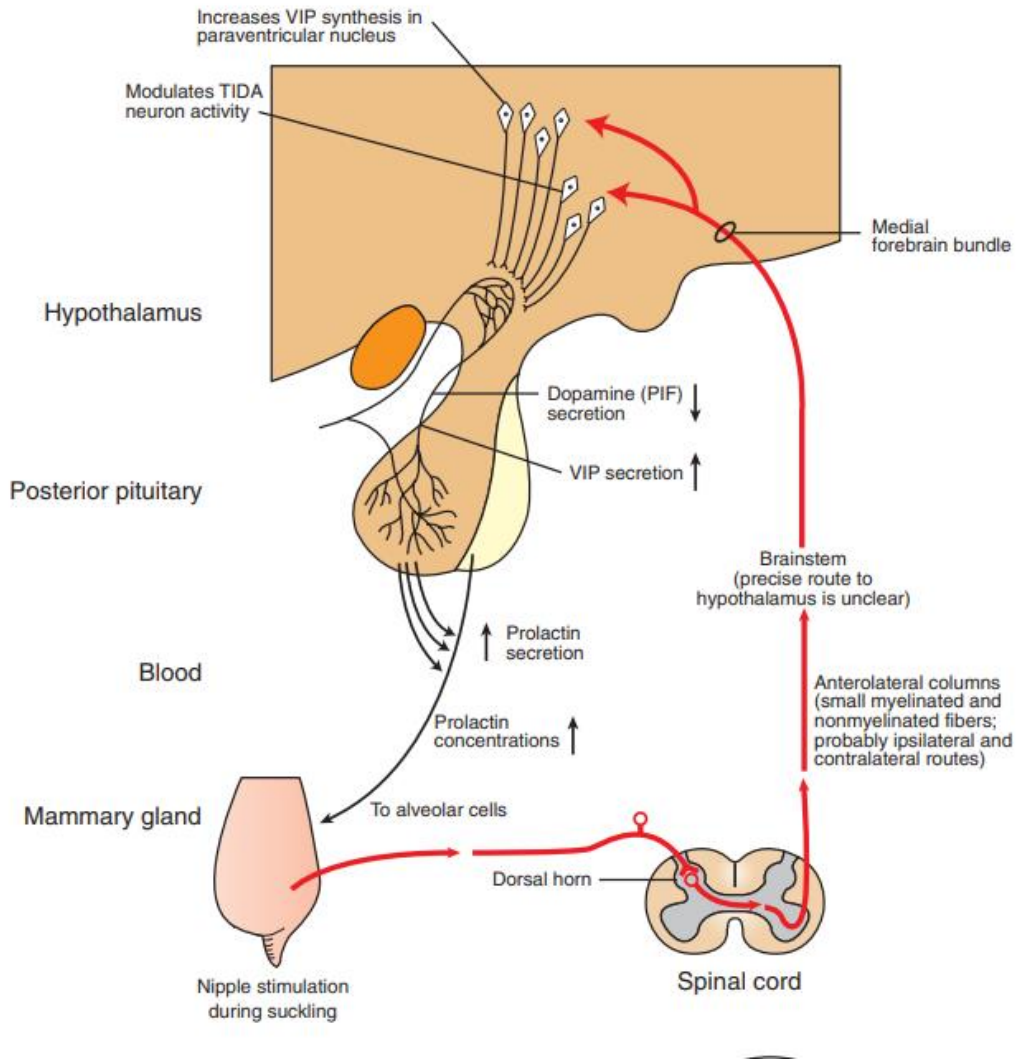
Lactogénesis y rutas de excreción

La lactogénesis es el proceso fisiológico mediante el cual las células epiteliales de los alvéolos adquieren la capacidad funcional para secretar leche (Akers & Denbow, 2025). Este fenómeno biológico se divide en dos etapas denominadas etapa I y etapa II (Reece & Rowe, 2017). Durante la etapa I se produce la diferenciación estructural del epitelio glandular, evento que ocurre en el último tercio de la gestación (Akers & Denbow, 2025). Por su parte, la etapa II se caracteriza por el inicio de la secreción copiosa de todos los componentes lácteos destinados al consumo (Reece & Rowe, 2017). Un cambio fisiológico necesario para garantizar la estabilidad de este fluido es el sellado de la barrera hemato-mamaria a través de la formación de uniones estrechas (Akers & Denbow, 2025). Este sello mecánico impide que las proteínas sanguíneas de gran tamaño pasen libremente o contaminen la secreción láctea (Reece & Rowe, 2017).

La síntesis de nutrientes de la leche madura se rige primordialmente por la hormona prolactina (Davidson & Stabenfeldt, 2020). El péptido intestinal vasoactivo (VIP) desempeña la función crucial de deprimir los inhibidores y estimular la liberación de esta hormona durante el proceso de ordeño (Davidson & Stabenfeldt, 2020). Ante el estímulo táctil recibido en la ubre, el VIP es liberado para activar la cascada de producción láctea dentro de las células (Davidson & Stabenfeldt, 2020). Específicamente, el VIP actúa a nivel del hipotálamo y favorece la descarga refleja de prolactina (Davidson & Stabenfeldt, 2020). Asimismo, los glucocorticoides operan de forma sinérgica con la prolactina para potenciar la diferenciación final de las células alveolares maduras (Akers & Denbow, 2025).

Figura 3

Vías somatosensoriales y mecanismo neuroendocrino del reflejo de secreción de prolactina inducido por la succión.

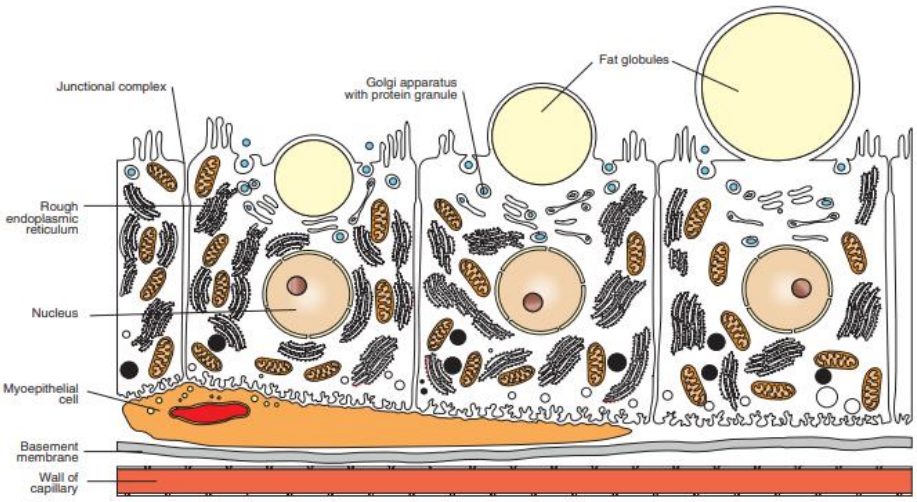


Nota. El estímulo táctil en el pezón envía impulsos a través de la médula espinal hacia el hipotálamo, donde se suprime la liberación de dopamina y se incrementa la del péptido intestinal vasoactivo (VIP). Esta respuesta bifásica induce a la hipófisis a secretar prolactina al torrente sanguíneo, elevando su concentración plasmática para estimular la síntesis de leche en las células alveolares. Adaptado de Johnson y Everitt (1988), extraído de Klein (2020).

En cuanto a las rutas de excreción, las proteínas lácteas y la lactosa son transportadas hacia el lumen alveolar por exocitosis de vesículas secretoras derivadas del aparato de Golgi (Akers & Denbow, 2025). La síntesis de lactosa constituye el principal motor regulador del volumen de la leche, ya que este azúcar atrae agua hacia las vesículas por mecanismos osmóticos (Akers & Denbow, 2025). Por otro lado, los lípidos se secretan a través de un proceso donde la membrana plasmática apical envuelve la gota lipídica para liberarla en forma de glóbulos de grasa (Reece & Rowe, 2017). El transporte de iones y moléculas pequeñas entre la leche y la sangre se realiza a través de rutas transcelulares específicas (Akers & Denbow, 2025). Finalmente, la remoción constante del fluido es indispensable, debido a que el aumento de la presión física dentro del alvéolo actúa como un inhibidor local de la síntesis de leche madura (Davidson & Stabenfeldt, 2020).

Figura 4

Organización subcelular del epitelio alveolar mamario y mecanismos de secreción de componentes lácteos.



Nota. Adaptado de Cowie (1984), extraído de Klein, 2020. El diagrama ilustra los glóbulos de grasa, el aparato de Golgi con gránulos de proteína, el retículo endoplásmico rugoso, el núcleo celular, la célula mioepitelial, la membrana basal y la pared del capilar sanguíneo

La barrera hemato-mamaria: Mecanismos de transporte de moléculas.

La barrera hemato-mamaria es aquella separación funcional existente entre la sangre y la leche ubicada en la glándula mamaria. Esta barrera es una estructura activa y selectiva cuya integridad logra determinar la composición de la leche; por lo tanto, cualquier alteración causará la difusión de fármacos en ella.

Las estructuras funcionales que conforman la barrera hemato-mamaria (BHM) durante la lactancia son: células endoteliales de los capilares, tejido conectivo, membrana basal y células epiteliales de los alvéolos mamarios (Wellnitz & Bruckmaier, 2021). Las células epiteliales de los alvéolos se conectan entre sí por medio de formaciones celulares como desmosomas, uniones adherentes y uniones estrechas, encargadas de separar los compartimentos que contienen leche del fluido extracelular circundante y la vasculatura (Wellnitz & Bruckmaier, 2021).

La barrera no se restringe exclusivamente a los alvéolos, sino que también el epitelio de los conductos galactóforos, la cisterna de la glándula y la cisterna del pezón tienen la función de impedir el intercambio no controlado entre sangre y leche, aunque cada uno con distinta capacidad de transporte (Wellnitz & Bruckmaier, 2021). Los estudios realizados por Linzell y Peaker (1971), usando distintos isótopos radiactivos en cabras, permitieron concluir que la mucosa de los conductos mamarios es prácticamente impermeable a algunos iones, tanto en la dirección sangre-leche como viceversa.

La barrera hemato-mamaria funciona como un filtro biológico selectivo al ser semipermeable y no un sistema de tránsito libre, ya que puede distinguir entre los nutrientes esenciales para la producción de leche y sustancias ajenas a este proceso. Es por ello que la entrada de fármacos a la leche no es accidental, sino que está regulada por algunos mecanismos biológicos específicos:

a. Difusión pasiva: Es el mecanismo principal por el cual un fármaco atraviesa la barrera hemato-mamaria sin gasto de energía. Siguiendo la Ley de Fick, una molécula se desplaza a favor de un gradiente de concentración, donde solo aquellas que carecen de carga eléctrica (fracción no ionizada) y tienen afinidad por los lípidos logran cruzar la membrana (Riviere, 2018). Por lo tanto, solo las moléculas que cumplen con estos requisitos pueden infiltrarse en la leche.
b. Transporte activo y difusión facilitada: Este mecanismo utiliza proteínas transportadoras ubicadas en las células del epitelio mamario, las cuales funcionan como puertas selectivas. Fisiológicamente, estas proteínas se encargan de regular el equilibrio hídrico e iónico, bombeando iones de potasio (K^+) hacia el interior del alvéolo y manteniendo niveles bajos de sodio (Na^+) y cloro (Cl^-) dentro de la leche, siempre que la barrera se mantenga íntegra (Linzell & Peaker, 1971). Por ello, cuando se presenta un cuadro de mastitis, el equilibrio iónico se ve afectado: en el caso del potasio, se reduce su concentración, mientras que aumentan las concentraciones de sodio y cloro (Wellnitz & Bruckmaier, 2021).
c. Flujo masivo: Este mecanismo permite el paso de moléculas pequeñas cuyo peso molecular es inferior a 1,000 Dalton (Da). Debido a su reducido tamaño, estas moléculas atraviesan la barrera sin necesidad de ser afines a los lípidos; en su lugar, aprovechan los poros de los capilares, denominados fenestraciones, para ser transportadas de forma pasiva por el movimiento del agua plasmática hacia el tejido mamario (Riviere, 2018). Por lo tanto, se trata de un transporte no selectivo que depende estrictamente del tamaño de la molécula y de la presión hidrostática dentro de los capilares.
d. Sistema P-glicoproteína: Este sistema está conformado por transportadores de eflujo localizados en las membranas de las células epiteliales. Su función principal

es actuar como una bomba que expulsa hacia la sangre los fármacos que ya han sido absorbidos por la célula, evitando así que se acumulen en la leche. Estas proteínas, denominadas de multirresistencia a fármacos (MDR, por sus siglas en inglés *Multidrug Resistance*), constituyen un mecanismo de protección evolutivo presente también en el epitelio intestinal, la placenta, los túbulos renales y los canalículos biliares, cuya función es proteger a los tejidos y a la cría de la exposición a sustancias tóxicas (Riviere, 2018).

Regulación fisiológica y dinámica de la BHM.

La integridad de la barrera hemato-mamaria (BHM) es variable, ya que cambia a lo largo del ciclo productivo del animal. Durante la calostrogénesis, la barrera es permeable y, aunque alcanza su plena funcionalidad en los primeros días de la lactancia, al final de esta vuelve a perder su integridad durante el proceso de involución, facilitando el pasaje de diversas moléculas (Wellnitz & Bruckmaier, 2021).

Esta regulación está mediada hormonalmente: los estrógenos influyen en la formación de las uniones estrechas, mientras que la progesterona inhibe el cierre de las mismas. Por otro lado, los glucocorticoides estabilizan estas uniones al inicio de la lactancia y la prolactina mantiene dicha estabilidad durante el periodo de lactancia activa (Wellnitz & Bruckmaier, 2021).

Bajo condiciones patológicas como la mastitis, la integridad de la barrera se ve comprometida. Esto facilita el tránsito de células y factores inmunitarios desde la sangre hacia la leche como respuesta defensiva; sin embargo, también permite el paso no controlado de componentes sanguíneos sin función inmunológica y de fármacos hacia el lumen alveolar (Wellnitz & Bruckmaier, 2021). Esta alteración durante los procesos inflamatorios tiene implicancias directas en la persistencia de residuos de antibióticos en la leche.

Factores fisicoquímicos: Liposolubilidad, pKa y grado de ionización.

El paso de los antibióticos desde la circulación sistémica hacia la leche está determinado por un conjunto de propiedades fisicoquímicas del fármaco; estas son las que generan las condiciones apropiadas para que las moléculas puedan atravesar las membranas lipídicas de la barrera hemato-mamaria (BHM).

a) Liposolubilidad:

Para que ocurra el proceso de difusión pasiva, se requiere que las moléculas carezcan de carga eléctrica (fracción no ionizada) y posean una alta afinidad por los lípidos. Dado que todas las membranas celulares son bicapas lipídicas con grupos hidrofílicos en la superficie e hidrofóbicos en el interior, la vía principal para el tránsito de los fármacos es la difusión a través de este entorno graso (Riviere, 2018).

Un coeficiente de partición favorable es la condición necesaria para esta difusión; sin embargo, si este coeficiente es excesivamente elevado, el fármaco puede quedar "secuestrado" dentro de la propia membrana, sin lograr completar el tránsito hacia el otro lado (el lumen alveolar) (Riviere, 2018).

b) El pKa, el pH y su grado de ionización

El pKa es el valor de pH en el cual un fármaco se encuentra en un equilibrio perfecto del cincuenta por ciento entre su forma ionizada y no ionizada. La interacción entre el pKa molecular y el pH del medio determina el grado de ionización, definido como la presencia de carga eléctrica en la sustancia a través de la ecuación de Henderson-Hasselbalch, regulando así su capacidad para cruzar la barrera hemato-mamaria hacia la leche (Gaohua et al., 2021).

Según su naturaleza química y grado de ionización, los antimicrobianos se clasifican en tres grupos:

1. Ácidos débiles: En medios ácidos se mantienen protonados y sin carga, lo que se conoce como forma no ionizada, aumentando su liposolubilidad y difusión. Por el contrario, en medios básicos se ionizan negativamente y se vuelven hidrosolubles, lo que bloquea su pasaje (Gaohua et al., 2021). A este grupo pertenecen los β-lactámicos, con pKa característicamente bajos entre 2,5 y 2,8 (Riviere, 2018), y las sulfonamidas, cuyo pKa clínicamente más relevante es el de su amina secundaria que oscila entre 5,03 y 7,81 (Mangalgiri et al., 2022).
2. Bases débiles: En medios ácidos se ionizan positivamente y quedan retenidas en la fase acuosa. En medios básicos permanecen sin carga, condición óptima para disolverse en los lípidos de la membrana y difundirse libremente (Gaohua et al., 2021). Un ejemplo característico en la terapéutica bovina son los macrólidos, los cuales poseen pKa marcadamente básicos que facilitan su penetración tisular (Riviere, 2018).
3. Anfóteros: Estas moléculas, donde se incluye a las tetraciclinas, poseen múltiples grupos funcionales y más de un pKa. Su grado de ionización es complejo debido a que pueden ganar o perder protones simultáneamente según las variaciones sutiles del pH del medio (Gaohua et al., 2021). Específicamente, las tetraciclinas presentan tres constantes de disociación cuyos valores varían entre 2,30 y 10,20 (Mangalgiri et al., 2022).

- 3.2.6. El atrapamiento iónico en la leche

El atrapamiento iónico es un fenómeno que ocurre cuando la diferencia de pH entre dos compartimentos separados por una membrana obliga a un fármaco a cambiar su carga eléctrica. Esto genera un gradiente donde el lado de la membrana que induce la ionización del medicamento acumula la mayor concentración del mismo, independientemente de la dosis administrada. Aunque la fracción libre y sin carga se mantiene en equilibrio a ambos lados de la barrera, la concentración total del antibiótico difiere notablemente entre los entornos.

En el caso de un animal bovino, la sutil diferencia entre el plasma sanguíneo bovino y la leche normal, que presenta un entorno más ácido situado entre 6,5 y 6,8; es biológicamente suficiente para activar este mecanismo. Al ser la escala de pH logarítmica, variaciones mínimas modifican hasta diez veces el grado de ionización de un fármaco, con consecuencias farmacocinéticas significativas para compuestos cuyo pKa se encuentre próximo al pH de la ubre (Gaohua et al., 2021).

Por lo tanto, los fármacos débilmente básicos se ionizan masivamente al ingresar al compartimento lácteo, perdiendo su liposolubilidad y quedando atrapados en concentraciones totales superiores a las plasmáticas. En contraste, los ácidos débiles muestran un comportamiento inverso, permaneciendo altamente ionizados en la sangre, lo que restringe su paso y evita su acumulación en una glándula mamaria sana (Riviere, 2018).

En el contexto cuando ocurre un proceso patológico como la mastitis, el pH de la leche se altera elevándose hasta igualar al del plasma. Esta alteración destruye el equilibrio químico normal, desarticulando el fenómeno de atrapamiento iónico tradicional. Como consecuencia directa, se modifican drásticamente tanto la eficacia terapéutica del tratamiento como los patrones de eliminación y persistencia de residuos esperables en la leche cruda (Riviere, 2018).

2.3. Farmacocinética de Antibióticos

Vías de administración en ganado lechero

Mientras que algunos medicamentos se aplican en sitios específicos para ejercer una acción estrictamente local sin requerir absorción, los fármacos destinados a producir un efecto sistémico deben alcanzar concentraciones óptimas en su sitio de acción. Por este motivo, la intensidad y eficacia del efecto farmacológico se correlacionan de manera más directa con la concentración plasmática alcanzada por el principio activo que con la dosis total administrada (Sumano et al., 2015).

Las vías de administración se clasifican fundamentalmente en enterales, cuando el fármaco se absorbe a través del tracto gastrointestinal, y parenterales, las cuales evitan el paso digestivo introduciendo el principio activo directamente al torrente circulatorio o a los tejidos. La velocidad y magnitud de esta absorción están determinadas por la concentración y presentación del fármaco, el área de absorción, el riego sanguíneo del tejido, la motilidad gastrointestinal, la unión inespecífica y el efecto Donnan (Sumano et al., 2015). En la producción lechera, la selección de estas rutas define el perfil de eliminación y la persistencia de los residuos en el producto final.

Las vías de administración más usadas en la producción lechera son las siguientes:

Vía intramamaria: Es la ruta más importante y específica en el ganado lechero, ya que se utiliza de forma directa para combatir las infecciones e inflamaciones de la ubre que causan la mastitis (Sumano et al., 2015). Al aplicarse, los medicamentos se introducen directamente a través del canal del pezón hacia la cisterna de la glándula; por esta razón, se necesitan fármacos con un pH neutro y una alta capacidad de difusión para que el antibiótico logre subir desde la cisterna hasta los alvéolos mamarios (Sumano et al., 2015). Aunque se trata de un método diseñado para lograr un efecto estrictamente local, una parte del fármaco puede absorberse hacia la sangre y terminar pasando a la leche de los otros cuartos de la vaca que no fueron tratados (Riviere, 2018). Para evitar que las personas consuman por error esta leche contaminada, en algún momento se sugirió obligar a las farmacéuticas a añadir colorantes que tiñeran la leche de un color llamativo durante todo el tiempo que durara el tratamiento del animal (Sumano et al., 2015).

En el mercado, estos productos vienen en dos presentaciones clave: para vacas en lactancia y para vacas secas. Los primeros son de liberación rápida y tienen un periodo de retiro más corto, mientras que los de vaca seca están fabricados para liberarse de forma muy lenta

durante todo el tiempo que el animal descanse antes de su próximo parto. Definitivamente, esta es la vía que provoca los mayores problemas de residuos en la leche comercial, ya que el medicamento se coloca directamente en la ubre, donde posteriormente se realizará el ordeño. Por lo tanto, la presencia de estos residuos no depende solamente de la dosis que aplique el ganadero, sino las características del antibiótico como su pKa y su facilidad para mezclarse en grasas y de qué tan comprometida esté la barrera hemato-mamaria por causa de la mastitis (Wellnitz & Bruckmaier, 2021).

Vía intravenosa: Se utiliza cuando se necesitan efectos inmediatos o concentraciones exactas y constantes de antibiótico en la sangre. Esta situación es muy común en casos de infecciones graves como la mastitis aguda, la metritis séptica o las neumonías severas. Al aplicar el medicamento directamente en la sangre se evita el proceso de absorción, lo que significa que la cantidad de fármaco aprovechada por el cuerpo es del 100% (Sumano et al., 2015). En los bovinos, esta inyección debe aplicarse de forma muy lenta, tomándose entre 5 y 7 segundos para que complete la circulación, ya que si se introduce rápido puede provocar picos de concentración tóxicos para el animal. El acceso más común en animales grandes es a través de la vena yugular, y es la ruta preferida para administrar dosis altas de oxitetraciclina, penicilina G sódica o florfenicol cuando se busca un efecto rápido en todo el cuerpo (Riviere, 2018).

Vía intramuscular: Es la ruta inyectable más utilizada en el campo para el tratamiento de los bovinos, ya que permite aplicar volúmenes grandes de medicamento sin la complicación de buscar una vena, y además acepta fórmulas de liberación prolongada. La velocidad con la que el cuerpo absorbe el antibiótico por esta vía depende de qué tan irrigado esté el músculo, de la facilidad del fármaco para mezclarse en grasas o agua, y de su carga eléctrica (Sumano et al., 2015). Por ejemplo, antibióticos β-lactámicos como la penicilina procaínica se combinan con vehículos como el aceite o el monoestearato de aluminio para lograr que el medicamento

se libere lentamente a través de esta ruta (Sumano et al., 2015). Sin embargo, una de sus mayores desventajas es que compuestos como el cloranfenicol y las tetraciclinas resultan muy irritantes y dolorosos al inyectarse en el músculo (Sumano et al., 2015). Asimismo, se debe tener en cuenta que no todos los fármacos logran ser aprovechados por completo por el organismo cuando se aplican a través de esta vía (Riviere & Papich, 2018).

Vía oral: Esta ruta tiene grandes limitaciones en vacas adultas debido a la anatomía de su sistema digestivo. Muchos medicamentos se degradan antes de hacer efecto, esto debido a los cambios de pH, la presencia de enzimas y las bacterias que habitan en el rumen (Sumano et al., 2015). Estos microorganismos digieren y modifican ciertos antibióticos, lo que reduce drásticamente la cantidad de fármaco que realmente llega a la sangre (Riviere, 2018). Para solucionar este problema, se utilizan opciones como los bolos de liberación prolongada, que son tabletas pesadas diseñadas para quedarse atrapadas en el rumen y soltar el antibiótico poco a poco sin que la vaca las devuelva al rumiar (Riviere & Papich, 2018). También se pueden usar sondas nasogástricas para enviar el medicamento directo al estómago o al intestino cuando el animal no puede tragar (Sumano et al., 2015). Por último, el ambiente del rumen tiene un pH cercano a 6.0 que cambia por completo la carga del medicamento; este entorno facilita que se absorban las bases débiles porque se mantienen sin carga, pero frena y dificulta el paso de los ácidos débiles al llenarlos de cargas eléctricas (Riviere & Papich, 2018). Por lo tanto, familias de antibióticos como los β-lactámicos y las sulfonamidas se ven gravemente perjudicadas en este entorno. Al llenarse de cargas eléctricas, pierden su liposolubilidad y quedan incapacitadas para atravesar la pared del rumen hacia el torrente sanguíneo, lo que provoca que terminen siendo degradadas por la microbiota ruminal antes de cumplir cualquier función terapéutica (Riviere & Papich, 2018).

Vías complementarias (intrauterina, subcutánea y percutánea): Estas rutas alternativas se utilizan para tratamientos específicos que no se cubren con las vías principales. Por la vía

subcutánea se pueden aplicar volúmenes de hasta 20 mL de ciertos productos, logrando una velocidad de absorción muy similar a la intramuscular cuando el animal está en reposo (Riviere & Papich, 2018). Asimismo, esta ruta es de gran utilidad para colocar dispositivos de liberación controlada llamados *pellets*, una estrategia empleada principalmente para administrar hormonas y algunos antiparasitarios (Sumano et al., 2015). Por otro lado, la vía intrauterina se reserva para tratar infecciones reproductivas, advirtiendo que el uso de ciertos antibióticos mal diluidos, como la oxitetraciclina, puede llegar a causar necrosis en el endometrio (Sumano et al., 2015). Finalmente, la vía percutánea se aprovecha directamente sobre la piel del animal gracias a su excelente capacidad de absorción cutánea, aplicándose principalmente para el control de parásitos y la entrega de algunos fármacos antiinflamatorios (Sumano et al., 2015).

Metabolismo en el organismo animal.

El metabolismo o biotransformación se define como el conjunto de cambios químicos inducidos por enzimas que sufre un fármaco en el cuerpo antes de ser eliminado definitivamente. Este proceso es uno de los mecanismos clave para la eliminación de sustancias, ya que disminuye la actividad farmacológica o la toxicidad de los medicamentos administrados (Sumano et al., 2015).

Si este mecanismo no ocurriera, el organismo tardaría muchísimo tiempo en librarse de los efectos de las sustancias liposolubles. Un ejemplo de esto es el pentobarbital, un anestésico muy liposoluble que solo puede excretarse si primero es metabolizado por el cuerpo. El objetivo principal de la biotransformación es convertir estas sustancias grasas en metabolitos hidrosolubles con más grupos hidrófilos, facilitando así su expulsión a través de la vía renal, fecal, respiratoria u otros mecanismos de salida (Sumano et al., 2015).

El hígado es el órgano principal encargado de transformar los medicamentos en el cuerpo. Sin embargo, en los bovinos, las bacterias del rumen y las células del intestino también

participan activamente en esta destrucción previa (Riviere, 2018). Estos tres componentes trabajan juntos en lo que se conoce como el efecto de primer paso, reduciendo de forma masiva la cantidad de antibiótico que logra llegar a la sangre tras ser ingerido por vía oral (Riviere, 2018).

El metabolismo de los fármacos se divide fundamentalmente en dos grandes fases consecutivas para lograr la transformación y eliminación de las sustancias del organismo (Riviere, 2018):

- Fase I: Consiste en preparar la molécula del fármaco mediante procesos de oxidación, reducción o hidrólisis, siendo el sistema de enzimas llamado citocromo P-450 el más importante en esta etapa (Riviere, 2018).
- Fase II: En esta parte, el hígado amarra el fármaco a sustancias como el ácido glucurónico o sulfatos para volverlo completamente soluble en agua, limitando su capacidad de esconderse en las grasas del cuerpo y facilitando su salida a través de la orina o la bilis (Riviere, 2018).

Como consecuencia directa de estas dos fases metabólicas, el fármaco original puede inactivarse, mantener su efecto, activarse o volverse tóxico (Sumano et al., 2015). Un ejemplo crítico en la producción lechera es el antibiótico ceftiofur, el cual se transforma en un derivado activo que sigue combatiendo bacterias y que puede detectarse en la leche incluso después de haber cumplido el periodo de retiro del medicamento original (Sumano et al., 2015).

Por otra parte, las variaciones en la forma de procesar estas etapas químicas constituyen la razón principal por la cual es imposible extrapolar las dosis entre distintas especies de animales (Riviere, 2018). Por ejemplo, la procaína resulta hasta veinte veces más tóxica en los caballos que en las vacas debido a las diferencias metabólicas en su sangre (Sumano et al., 2015). Además de estas diferencias en los tejidos, los rumiantes poseen un factor exclusivo que

es la degradación provocada por los microorganismos del rumen, los cuales metabolizan fármacos específicos y actúan como un componente extra en la pérdida de medicamento antes de que llegue a la sangre (Riviere, 2018). Esto afecta directamente la eficacia de la vía oral; por ejemplo, antibióticos como las tetraciclinas se atrapan al unirse con minerales como el calcio o el magnesio presentes en el rumen, reduciendo drásticamente su absorción en el cuerpo y cambiando su posterior eliminación en la leche (Riviere, 2018).

En el caso específico de las vacas lecheras, la velocidad del hígado para ejecutar este metabolismo cambia según la temperatura, las enfermedades y la alimentación del animal, donde una baja nutrición ralentiza el proceso y prolonga los residuos en la leche (Sumano et al., 2015). Normalmente, esta velocidad de eliminación sigue una cinética exponencial donde el aumento del medicamento en la sangre no altera el tiempo que el cuerpo tarda en destruirlo (Sumano et al., 2015). Sin embargo, cuando se aplican dosis muy altas o tratamientos repetidos, las enzimas del hígado se saturan y el metabolismo cambia a una cinética acumulativa; bajo este estado, el cuerpo se vuelve incapaz de procesar el exceso a tiempo, provocando que el antibiótico se acumule peligrosamente y persistan los residuos en la leche por mucho más tiempo del previsto (Sumano et al., 2015).

Excreción láctea y cinética de eliminación.

La duración del efecto terapéutico de un medicamento en el organismo está determinada por la interacción conjunta de su absorción, distribución, biotransformación y redistribución, sumado finalmente a su proceso de excreción (Sumano et al., 2015). En términos generales, los mecanismos encargados de expulsar estas sustancias se rigen por las mismas leyes físicas y químicas descritas para la distribución de los compuestos en los tejidos. Por esta razón, la velocidad con la que un antibiótico es eliminado del cuerpo depende directamente del equilibrio químico regulado por su pKa y el pH del entorno orgánico, así como de las propiedades hemodinámicas y el flujo sanguíneo del individuo (Sumano et al., 2015).

Asimismo, se debe considerar que estas características de eliminación no son fijas, sino que varían significativamente en animales que cursan con alguna enfermedad, e incluso se presentan diferencias notables entre individuos completamente sanos de la misma especie (Sumano et al., 2015). Aunque las sustancias pueden ser expulsadas a través de diversas rutas corporales como la vía pulmonar, salival, cutánea, gastrointestinal o genital, las vías de excreción con mayor relevancia clínica y analítica en la producción bovina son la renal, la biliar y, de manera crítica para el estudio de residuos, la vía mamaria a través de la leche (Sumano et al., 2015).

La excreción láctea constituye una vía de eliminación de fármacos de particular importancia en el bovino lechero, tanto desde el punto de vista terapéutico para el control de enfermedades como por su impacto directo en la salud pública. En principio, cualquier medicamento administrado a la madre tiene la capacidad de atravesar el endotelio de los capilares sanguíneos hacia las células alveolares o secretoras de la glándula mamaria, siendo la difusión pasiva el principal mecanismo involucrado en este transporte (Sumano et al., 2015).

La cantidad total de fármaco que logra aparecer en la leche depende estrechamente de sus propiedades fisicoquímicas, tales como un peso molecular reducido que le permita atravesar la barrera hemato-mamaria con facilidad, una alta liposolubilidad para cruzar las membranas celulares, y una baja unión a proteínas plasmáticas, debido a que únicamente la fracción libre de medicamento está disponible para difundir hacia el tejido mamario (Sumano et al., 2015).

Asimismo, el grado de ionización juega un rol crítico debido a que el pH de la leche bovina es ligeramente más ácido que el del plasma sanguíneo. Esta diferencia provoca que los fármacos de carácter básico débil se concentren intensamente en la leche mediante el fenómeno de atrapamiento iónico, llegando a encontrarse niveles significativamente más altos en el

compartimento mamario que en la circulación general (Sumano et al., 2015). No obstante, si un proceso patológico como la mastitis altera las condiciones de la ubre, el pH de la leche puede aumentar notablemente hasta aproximarse al valor del plasma; esta alteración destruye el equilibrio de distribución normal, modificando drásticamente los patrones de persistencia de los antibióticos y extendiendo la aparición de residuos lácteos por encima de los tiempos previstos (Riviere, 2018).

La evaluación cuantitativa del paso de los antibióticos hacia el compartimento mamario se determina a través de la relación conocida como proporción leche-plasma. Los valores analíticos de esta relación confirman de manera directa el principio del atrapamiento iónico en la glándula mamaria: los antibióticos de carácter básico como la eritromicina, la tilosina y la espiramicina, presentan proporciones leche-plasma significativamente superiores a la unidad, mientras que los fármacos ácidos débiles (como las penicilinas y algunas sulfonamidas de bajo pKa) muestran proporciones inferiores a uno (Sumano et al., 2015).

Por otra parte, la velocidad con la que disminuye la concentración de un fármaco en el organismo está supeditada a su vida media de eliminación, parámetro que representa el tiempo requerido para que la concentración acumulada en el cuerpo se reduzca exactamente a la mitad (Sumano et al., 2015). La vida media, junto con la tasa de depuración o *clearance* total del organismo (que integra la limpieza del fármaco a través de la vía renal, hepática y mamaria), constituye el fundamento biológico puro utilizado por las autoridades sanitarias para establecer el periodo de retiro de los medicamentos (Riviere, 2018).

En el ámbito de la inocuidad alimentaria, estos conceptos proporcionan el sustento definitivo para definir el periodo de retiro como el intervalo de tiempo necesario para que los residuos de un fármaco en los tejidos comestibles o en la leche disminuyan hasta niveles

seguros situados por debajo del Límite Máximo de Residuo (LMR) legalmente permitido (Riviere, 2018).

Este equilibrio en la eliminación puede verse severamente afectado por el estado patológico de la glándula mamaria. Por ejemplo, en vacas sanas, los antibióticos como las fluoroquinolonas logran alcanzar altas concentraciones en la leche; sin embargo, ante la presencia de mastitis clínica o subclínica, la consecuente alcalinización del pH lácteo provoca que los niveles del fármaco caigan drásticamente en la ubre, comprometiendo la eficacia del tratamiento (Sumano et al., 2015). Del mismo modo, compuestos como el ceftiofur no logran alcanzar concentraciones terapéuticas en el tejido lácteo cuando son administrados por vía parenteral, un factor crítico que impacta tanto en el éxito clínico como en los esquemas de seguridad alimentaria (Sumano et al., 2015).

Finalmente, un escenario de alta complejidad ocurre con el grupo de los aminoglucósidos, los cuales poseen una baja liposolubilidad y una carga eléctrica fija. En este caso, la eliminación renal se acompaña de un proceso de reabsorción tubular que provoca la acumulación del fármaco dentro de las células de los riñones (Riviere & Papich, 2018). Este fenómeno de almacenamiento intracelular genera un depósito prolongado que extiende la persistencia de los residuos en el cuerpo del animal mucho más allá de lo estimado por la vida media plasmática convencional, operando bajo los mismos principios de gradiente de pH que gobiernan la distribución hacia la leche (Gaohua et al., 2021).

2.4. Familias de Antibióticos en Estudio

β-lactámicos

Los antibióticos β-lactámicos son una de las clases antibacterianas de mayor importancia, tanto en la historia, como en la clínico, y se caracterizan por la presencia de un anillo β-lactámico en su estructura química. Esta familia de antibióticos está conformada por

las penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y monobactámicos; cada uno de ellos comparte un núcleo estructural y un mecanismo de acción, el cual es de inhibir la síntesis de la pared celular bacteriana de peptidoglucano (Brunton & Knollmann, 2023). La estructura de las penicilinas está conformada por un anillo tiazolidina y un anillo β-lactámico, al cual se une una cadena lateral que determina las propiedades antibacterianas, la vulnerabilidad a enzimas desactivadoras, su afinidad por las proteínas fijadoras de penicilina (PBP, penicillin-binding proteins) y las características farmacocinéticas del compuesto (Brunton & Knollmann, 2023). La modificación de las cadenas laterales es la que da origen a subcategorías en las penicilinas tales como las penicilinas naturales como la penicilina G, las aminopenicilinas como ampicilina y amoxicilina, las penicilinas resistentes a penicilinasas como oxacilina y cloxacilina, y las penicilinas de espectro extendido como piperacilina (Papich, **β**-Lactam Antibiotics: Penicillins, Cephalosporins, and Related Drugs, 2018). En la ganadería bovina, la penicilina G y las aminopenicilinas siguen siendo los antibióticos más utilizados y con mayor relevancia tanto histórica como actual para el tratamiento de infecciones (Sumano et al., 2015).

El mecanismo de acción de los β-lactámicos consiste en la inhibición irreversible de las transpeptidasas bacterianas, también conocidas como proteínas fijadoras de penicilina (PBP). Estas enzimas son las encargadas de catalizar la reacción de transpeptidación, responsable del entrecruzamiento de las cadenas peptídicas que estabilizan la pared de peptidoglucano. Biológicamente, la pared celular bacteriana es un heteropolímero compuesto por cadenas alternadas de los azúcares ***N***-acetilglucosamina y *N*-acetilmurámico, las cuales se entrelazan firmemente mediante dichos puentes de péptidos para dar rigidez a la célula (Brunton & Knollmann, 2023). Los β-lactámicos inhiben el último paso de este proceso de síntesis; en consecuencia, la pared celular pierde su integridad estructural y la bacteria queda expuesta a la lisis osmótica (Brunton & Knollmann, 2023).

La penicilina es reconocida como causa de reacciones alérgicas graves en personas sensibilizadas, de modo que la presencia de residuos de penicilina en la leche representa un riesgo de salud pública documentado (Papich, **β**-Lactam Antibiotics: Penicillins, Cephalosporins, and Related Drugs, 2018). El *Codex Alimentarius*, organismo clave de la FAO/OMS para el control de residuos de fármacos en alimentos, tiene una tolerancia de cero residuos para la penicilina G benzatínica y límites extremadamente bajos para la mayoría de los β-lactámicos (Sumano et al., 2015). Los tiempos de retiro aprobados por la FDA son válidos exclusivamente para la especie, dosis, vía y frecuencia de administración especificadas en la etiqueta del producto, y son específicos para el fabricante y la formulación comercial; una misma sustancia activa puede tener tiempos de retiro diferentes en productos con formulaciones distintas (Papich, **β**-Lactam Antibiotics: Penicillins, Cephalosporins, and Related Drugs, 2018).

En la Tabla 1 se detallan los esquemas de dosificación representativos y los correspondientes periodos de retiro establecidos para los principales antibióticos β-lactámicos utilizados en la terapia bovina, evidenciándose la variabilidad regulatoria según la vía de administración y la formulación comercial empleada.

El principal mecanismo de resistencia bacteriana frente a la familia de los β-lactámicos reside en la síntesis de enzimas inactivadoras, denominadas β-lactamasas (Papich, **β**-Lactam Antibiotics: Penicillins, Cephalosporins, and Related Drugs, 2018). Dichas proteínas catalizan la hidrólisis del anillo β-lactámico, proceso que inactiva la molécula con anterioridad a su unión con su sitio (Brunton & Knollmann, 2023). Mientras que en las bacterias Gram-positivas estas enzimas son secretadas al medio extracelular, en las Gram-negativas su localización se restringe al espacio periplásmico (Brunton & Knollmann, 2023). Los determinantes genéticos responsables de su expresión suelen ubicarse en elementos genéticos móviles, tales como

plásmidos o transposones, factor que facilita la diseminación horizontal de la resistencia (Papich, **β**-Lactam Antibiotics: Penicillins, Cephalosporins, and Related Drugs, 2018).

Alternativamente, la resistencia puede ser mediada por modificaciones estructurales en su sitio diana mediante mutaciones en los genes que codifican las proteínas de unión a penicilina (PBP) (Papich, **β**-Lactam Antibiotics: Penicillins, Cephalosporins, and Related Drugs, 2018). Un ejemplo, es la resistencia observada en *Staphylococcus* spp., mediada por la codificación de una variante de PBP con afinidad reducida por la mayoría de los agentes β - lactámicos (Brunton & Knollmann, 2023).

Asimismo, la resistencia puede derivar de la impermeabilidad de la membrana externa en bacterias Gram-negativas (Papich, **β**-Lactam Antibiotics: Penicillins, Cephalosporins, and Related Drugs, 2018). Este fenómeno es consecuencia de la alteración o disminución en la expresión de porinas, proteínas transmembrana que regulan el acceso de fármacos hidrófilos hacia el sitio de acción. Finalmente, diversos microorganismos emplean mecanismos de eflujo activo mediante bombas de expulsión, las cuales, mediante un proceso dependiente de energía, reducen la concentración del fármaco presente dentro de la bacteria (Brunton & Knollmann, 2023).

Tabla 1

Clasificación de antibióticos ß-lactámicos en bovinos, vías de administración y tiempos de retiro en leche.

Grupo	Principio activo	Vías de administración	Tiempo retiro en leche
Penicilinas Naturales	Penicilina G (sódica, potásica, procaínica, benzatínica)	IV, IM, SC, Intramamaria	Desde 72 horas (procaínica). Periodos prolongados con tolerancia cero (benzatínica).
Penicilinas Antiestafilocócicas	Oxacilina, Cloxacilina, Dicloxacilina, Nafcilina	Intramamaria	≥ 48 a 72 horas en lactación.
Aminopenicilinas y Combinaciones	Ampicilina, Amoxicilina.	IM, SC, Intramamaria	De 48 a 72 horas (ampicilina) y 96 horas (amoxicilina).
Cefalosporinas de primera generación	Cefalotina, Cefazolina, Cefapirina, Cefalexina	IM, SC, Intramamaria	Desde < 24 horas (cefalexina) hasta 96 horas (cefapirina y cefazolina en secado).
Cefalosporinas de tercera y cuarta Generación	Ceftiofur (sódica / cristal ácido), Cefovecina, Ceftriaxona	IM, SC	Ceftiofur sódico requiere de 3 a 4 ordeñas.

Nota. Los datos corresponden exclusivamente a la especie bovina. Los tiempos de retiro en leche reflejan valores orientativos y críticos basados en las directrices del *Codex Alimentarius*, los cuales pueden variar según el preparado comercial, el vehículo farmacéutico y la normativa nacional vigente. IM: intramuscular; IV: intravenosa; SC: subcutánea. Extraído de Sumano et al., 2015.

Tetraciclinas

Las tetraciclinas son un grupo de antibióticos capaces de actuar frente a una amplia variedad de microorganismos vivos, incluyendo bacterias grampositivas y gramnegativas, así como patógenos atípicos que suelen transmitirse por vectores en el campo (Brunton & Knollmann, 2023). En la ganadería bovina, la oxitetraciclina es la herramienta más utilizada debido a su versatilidad para combatir infecciones en diversos sistemas del animal, controlando desde afecciones respiratorias, uterinas y problemas en las pezuñas (Papich & Riviere, 2018). Para su aplicación comercial, este compuesto suele presentarse en forma de sal (clorhidrato), lo que le otorga una mayor estabilidad para su conservación y manejo (Papich & Riviere, 2018).

El éxito de estos antibióticos radica en su capacidad para frenar la multiplicación bacteriana; efecto bacteriostático, bloqueando la fabricación de sus proteínas esenciales. Las tetraciclinas entran a la célula y se acoplan de forma reversible a los ribosomas bacterianos, encargados de traducir el código genético (Brunton & Knollmann, 2023). Al interferir en este punto, impiden que la bacteria continúe sintetizando proteínas vitales, deteniendo su ciclo de crecimiento. Una característica importante de este mecanismo es su selectividad biológica: no afecta a las células del ganado porque estas carecen de los sistemas de transporte que acumulan el fármaco en el citoplasma y, además, porque el antibiótico tiene mayor afinidad por unirse a los ribosomas bacterianos antes que a los del hospedero (Papich & Riviere, 2018).

En cuanto a su distribución a través del organismo del animal, las tetraciclinas tienen una alta afinidad por las grasas; son muy liposolubles, lo que les permite atravesar con facilidad las membranas celulares de la barrera hemato-mamaria mediante difusión pasiva (Papich & Riviere, 2018). Su comportamiento en los fluidos varía según los cambios de pH entre la sangre y el tejido mamario, regulando la cantidad de fármaco que se deposita finalmente en la ubre (Sumano et al., 2015).

Una propiedad fundamental para el análisis de residuos es que las tetraciclinas actúan como agentes quelantes; es decir, tienen la capacidad de unirse fuertemente a minerales como el calcio y el magnesio (Papich & Riviere, 2018). Esta interacción es crítica en la producción lechera, ya que la ubre es un ambiente sumamente rico en calcio. Al unirse a este mineral, el antibiótico forma complejos estables que dificultan su eliminación natural, prolongando la presencia de residuos del fármaco en los ordeños posteriores (Brunton & Knollmann, 2023).

Los datos específicos sobre las dosis aplicadas en el campo y los días requeridos para que estos residuos desaparezcan por completo del organismo se detallan en la Tabla 2. Estos periodos de espera son esenciales en salud pública para garantizar que la leche colectada cumpla con los estándares de inocuidad alimentaria y no represente un riesgo para el consumidor (Sumano et al., 2015).

Finalmente, la resistencia que desarrollan las bacterias frente a este grupo de fármacos es un proceso evolutivo facilitado por el intercambio de material genético como plásmidos o transposones en el ambiente ganadero (Brunton & Knollmann, 2023). Los microorganismos se defienden principalmente expulsando el medicamento mediante bombas celulares o utilizando proteínas protectoras que desalojan al antibiótico de los ribosomas para que la célula continúe su ciclo normal (Papich & Riviere, 2018). Un aspecto clave en la ecología bacteriana es que cuando una población se vuelve resistente a una tetraciclina en particular, por lo general

desarrolla resistencia cruzada hacia todos los demás antibióticos miembros de la familia debido a que comparten el mismo sitio de ataque dentro de la célula (Papich & Riviere, 2018).

Tabla 2

Antibióticos tetraciclinas administrados en bovinos, vías de administración y tiempos de retiro en leche.

Principio activo	Vía de administración	Tiempo de retiro en leche
Oxitetraciclina	IM profunda, IV lenta, oral	45 días para aplicaciones parenterales (IM/IV). No se recomienda su administración oral en vacas lecheras en producción.
Clortetraciclina	Oral	2 días (empleado generalmente como aditivo en el alimento).

Tabla 2 *(Continuación)*

Principio activo	Vía de administración	Tiempo de retiro en leche
Tetraciclina	IV lenta, oral	5 días.
Doxiciclina	SC, IV muy lenta	No establecido para leche en la mayoría de los países. Se encuentra contraindicada por vía IV debido al riesgo inminente de colapso cardiovascular.

Nota. Los datos corresponden exclusivamente a la especie bovina. Los tiempos de retiro reflejan valores orientativos que pueden variar significativamente según el vehículo farmacéutico y la normativa nacional vigente. IM: intramuscular; IV: intravenosa; SC: subcutánea. Extraído de Sumano et al., 2015.

Sulfonamidas

Las sulfonamidas se caracterizan por ser polvos cristalinos blancos que actúan como ácidos orgánicos débiles (Sumano et al., 2015). Su solubilidad acuosa fluctúa significativamente en función de su valor de pKa y del entorno iónico (Sumano et al., 2015). En la industria láctea, su administración está estrictamente supervisada debido a la alta preocupación por la persistencia de residuos químicos en el producto final (Sumano et al., 2015).

Las sulfonamidas actúan mediante la inhibición competitiva de la enzima dihidropteroato sintasa, bloqueando la incorporación de PABA (paraaminobenzoico). Esto interrumpe la síntesis de ácido fólico, un precursor esencial para la producción de ácidos nucleicos bacterianos (Brunton & Knollmann, 2023). La alta selectividad biológica de estos fármacos radica en la ausencia de esta ruta enzimática en mamíferos. Asimismo, aunque poseen un efecto bacteriostático, su sinergismo con diaminopirimidinas induce una acción bactericida que amplía el espectro terapéutico y mitiga la aparición de cepas resistentes (Brunton & Knollmann, 2023).

La farmacocinética de las sulfonamidas en bovinos está determinada por su naturaleza de ácidos débiles. Su transferencia hacia la glándula mamaria ocurre mediante difusión pasiva; ya que en este caso no ocurre un proceso de atrapamiento iónico; por el contrario, es su alta afinidad lipídica facilita el paso a través de la barrera hemato-mamaria, permitiendo alcanzar concentraciones detectables en la leche. Finalmente, estos compuestos se metabolizan mayoritariamente en el hígado y se eliminan principalmente por vía renal (Sumano et al., 2015).

La resistencia bacteriana a las sulfonamidas suele adquirirse mediante transferencia de genes ya sean plásmidos o transposones. Los mecanismos biológicos principalmente son tres: la alteración estructural de la enzima dihidropteroato sintasa para que no tenga afinidad con el

fármaco, la reducción de la permeabilidad de la membrana celular y la sobreproducción endógena de PABA. Cabe señalar que la resistencia adquirida a un compuesto suele conferir resistencia cruzada automática hacia el resto de la familia (Brunton & Knollmann, 2023).

Tabla 3

Antibióticos sulfonamidas administrados en bovinos, vías de administración y tiempos de retiro en leche.

Principio Activo / Combinación	Vías Comunes	Tiempo de retiro en leche
Sulfametacina *(Sulfadimidina)*	IV, Oral	96 horas para la vía IV. Su uso en bolos orales de liberación prolongada está estrictamente restringido en vacas lecheras en producción (28 días de retiro en carne).

Tabla 3 *(Continuación)*

Principio Activo / Combinación	Vías Comunes	Tiempo de retiro en leche
Sulfadimetoxina	IV, Oral	60 horas para la vía IV. Las presentaciones de liberación prolongada oral están diseñadas para ganado de carne.
Sulfadimetoxina / Ormetoprim	Oral	No recomendada en animales en lactación.
Sulfacloropiridacina sódica	IV, Oral	7 días (168 horas) para leche en vacas lactantes. Las dosis en becerros menores a 1 mes aplican solo para carne.

Sulfadiazina / Trimetoprim	IM, IV, Oral	12 días para vías parenterales (IM/IV). Las presentaciones orales se limitan a becerros debido a su prolongado tiempo de descarte (35 días en carne).
Sulfametoxazol / Trimetoprim	IM, IV	No definido de forma uniforme (generalmente ≥ 21 días). Se aconseja no usar en vacas lecheras en producción.

Nota. Los datos corresponden exclusivamente a la especie bovina. IM: intramuscular; IV: intravenosa. Extraído de Sumano et al., 2015.

2.5. Calidad e Inocuidad Alimentaria de la Leche

Propiedades físico-químicas de la leche bovina.

La leche bovina es considerada una fuente rica en elementos esenciales necesarios para la nutrición humana (Haseeb et al., 2023). Su composición química varía considerablemente dentro de la misma especie debido a una interacción multifactorial que incluye la raza del ganado, la etapa de lactación, el intervalo de ordeño, el régimen de alimentación y las condiciones climáticas de la región (Roy et al., 2020).

Los componentes mayoritarios de la leche se agrupan en cuatro fracciones principales: proteínas, grasas, lactosa y minerales. Con respecto a la fracción proteica, existe una relación porcentual constante de 82% de caseína y 18% de proteínas del suero (Roy et al., 2020). Por otra parte, la fracción lipídica de la leche bovina se estructura en forma de glóbulos grasos esféricos, los cuales están recubiertos por una membrana trilaminar de fosfolípidos denominada membrana del glóbulo de grasa; asimismo, esta matriz destaca por contener una mayor proporción de ácidos grasos de cadena corta en comparación con la leche de otros rumiantes (Roy et al., 2020).

Desde la perspectiva de la toxicología de residuos farmacológicos, estas propiedades fisicoquímicas de la leche son factores determinantes. La distribución y transferencia de xenobióticos desde el torrente sanguíneo hasta el tejido de la glándula mamaria ocurren predominantemente mediante el mecanismo de difusión pasiva simple a favor de un gradiente de concentración. Este proceso está condicionado por variables intrínsecas del fármaco como el peso molecular, el grado de ionización y el pKa (Imperiale & Lanusse, 2021). De este modo, la naturaleza emulsificada de la grasa láctea y la afinidad de ciertos antibióticos lipofílicos explican la elevada partición de estos compuestos hacia la matriz de la leche, favoreciendo una prolongada persistencia de residuos químicos tras el tratamiento veterinario si no se respetan rigurosamente los periodos de retiro (Imperiale & Lanusse, 2021).

Tabla 4

Composición de la leche en distintas especies .

Especie	Grasas	Proteínas	Lactosa	Cenizas
Gato	7,1	10,1	4,2	0,5
Vaca	3,5	3,1	4,9	0,7
Perro	9,5	9,3	3,1	1,2
Cabra	3,5	3,2	4,6	0,8
Caballo	1,6	2,4	6,1	0,5

Nota. Adaptado de Jacobson y McGilland (1984). Citado de Klein (2020).

Límites Máximos de Residuos (LMR) según Codex Alimentarius, FDA y normativa peruana (MINSA/DIGESA).

El Límite Máximo de Residuos (LMR) define la cantidad máxima de residuos o trazas de fármacos que son permitidos legalmente en un alimento. Tanto la Comisión del *Codex*

Alimentarius como la Agencia Europea de Evaluación de Medicamentos se encargan de estandarizar la información obtenida en estudios de dosis de nivel sin efecto observado (NOEL) e ingesta diaria admisible (IDA) para establecer dicho valor (Sumano et al., 2015). Asimismo, se precisa que el cálculo del LMR debe ponderar factores farmacocinéticos como la absorción, distribución, metabolismo y excreción, evaluando críticamente si el fármaco persiste en el sitio de inyección o si su velocidad de eliminación presenta variaciones significativas según el tipo de matriz alimentaria final, ya sea en carne, huevo o leche. Finalmente, se destaca que es mandatorio que el fabricante original del fármaco provea la metodología analítica correspondiente para detectar estas concentraciones traza, permitiendo que las autoridades sanitarias de cada país vigilen epidemiológicamente el cumplimiento de los tiempos de retiro a través de técnicas de relativa sencillez operativa (Sumano et al., 2015).

Para efectos de la presente investigación, los valores oficiales de LMR establecidos para las familias de antibióticos evaluadas en leche bovina (betalactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas), los cuales determinan los límites de detección analítica del kit inmunocromatográfico utilizado, se detallan formalmente para su comparación en el Anexo 3**.**

Resistencia a antibióticos y salud pública

La resistencia antimicrobiana se define como el fenómeno biológico por el cual los microorganismos pierden su sensibilidad a fármacos que anteriormente eran eficaces para controlar su crecimiento o eliminarlos (Haseeb et al., 2023). Este problema de carácter mundial tiene como uno de sus principales motores el uso masivo e indiscriminado de antibióticos en la ganadería de producción (Gálvez, 2011). La presencia de residuos de estos fármacos en la leche cruda es una consecuencia directa del incumplimiento de los periodos de retiro, entendido como el tiempo necesario para que el organismo animal metabolice y elimine la sustancia por debajo de los límites legales (Duy, 2020).

Desde la perspectiva de la salud pública, la ingestión crónica de estos residuos a través de alimentos de origen animal genera una presión selectiva constante en la microbiota intestinal del consumidor (Costa et al., 2024). Este proceso adaptativo favorece la supervivencia y proliferación de bacterias resistentes, las cuales poseen la capacidad de transferir sus genes de resistencia hacia otros patógenos humanos (Aguilar, 2020). La Organización Mundial de la Salud ha advertido que, de no controlarse este fenómeno, múltiples enfermedades infecciosas que hoy en día son tratables podrían volverse incurables en el futuro cercano (Gálvez, 2011).

Además del riesgo epidemiológico de la resistencia a antimicrobianos, los residuos de antibióticos especialmente los ß-lactámicos y las tetraciclinas pueden desencadenar reacciones inmunológicas de hipersensibilidad severa, incluyendo el choque anafiláctico en individuos susceptibles (Tipán, 2019). Asimismo, se han reportado alteraciones en la microbiota a largo plazo, caracterizados por la alteración cualitativa de la flora intestinal y la consecuente reducción en la síntesis endógena de vitaminas esenciales (Aguilar, 2020). En el ámbito de la industria láctea, estos contaminantes químicos ejercen un efecto bacteriostático o bactericida que inhibe a los cultivos iniciadores, impidiendo los procesos de fermentación y acidificación indispensables para la manufactura de derivados como quesos y yogures (Caracundo, 2019).

2.6. Detección de Residuos mediante Inmunocromatografía

Fundamento de la inmunocromatografía competitiva de flujo lateral.

La inmunocromatografía de flujo lateral representa una evolución tecnológica avanzada de los ensayos tradicionales de aglutinación de látex. Consolidada a finales de la década de 1980 y principios de la década de 1990, esta plataforma de diagnóstico rápido logró masificarse gracias a la integración de avances clave en la fabricación de membranas de nitrocelulosa, el desarrollo de anticuerpos monoclonales y el diseño de sistemas de dispensación de fluidos de alta precisión (O'Farrell, 2009). En la actualidad, su enorme versatilidad y la capacidad de

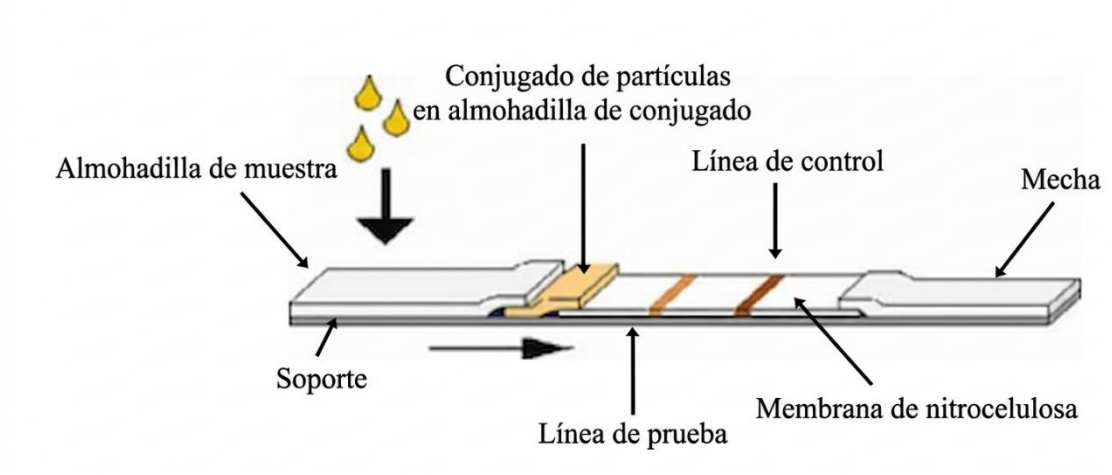
procesar muestras líquidas complejas en pocos minutos, sin requerir equipamiento analítico sofisticado, han extendido su aplicación desde el ámbito de las pruebas de embarazo humanas hasta sectores críticos como la medicina veterinaria y el control de la inocuidad en la seguridad alimentaria (O'Farrell, 2009).

Estructuralmente, una tira reactiva de flujo lateral está constituida por un conjunto de materiales porosos y específicos que se encuentran superpuestos de forma secuencial y montados sobre un soporte plástico adhesivo. De forma proximal a distal, cada sección cumple una función dinámica y complementaria durante el desplazamiento de los fluidos (O'Farrell, 2009):

- Almohadilla de muestra: Es la zona inicial de entrada donde se aplica el fluido biológico y se somete a un acondicionamiento químico preliminar para asegurar su compatibilidad con el sistema de migración (O'Farrell, 2009).
- Almohadilla de conjugado: Región donde se encuentra inmovilizado el marcador particulado, el cual, para el caso específico del Kit Bioeasy, consiste en oro coloidal conjugado con componentes biológicos como anticuerpos o receptores específicos.
- Matriz de reacción o membrana de nitrocelulosa: Es la zona porosa central donde se han fijado estratégicamente los reactivos de captura, albergando de forma física tanto a la línea de prueba como a la línea de control para la lectura del ensayo.
- Almohadilla absorbente o mecha: Ubicada en el extremo terminal de la tira, funciona como un reservorio hidrofílico que recoge el exceso de los reactivos y ejerce una fuerza de succión constante que garantiza el flujo capilar continuo a lo largo de toda la membrana (O'Farrell, 2009).

Figura 5

Configuración típica de una tira reactiva de inmunoensayo de flujo lateral



Nota. Extraído de O'Farrell, 2009

Principio operativo del formato competitivo por inhibición

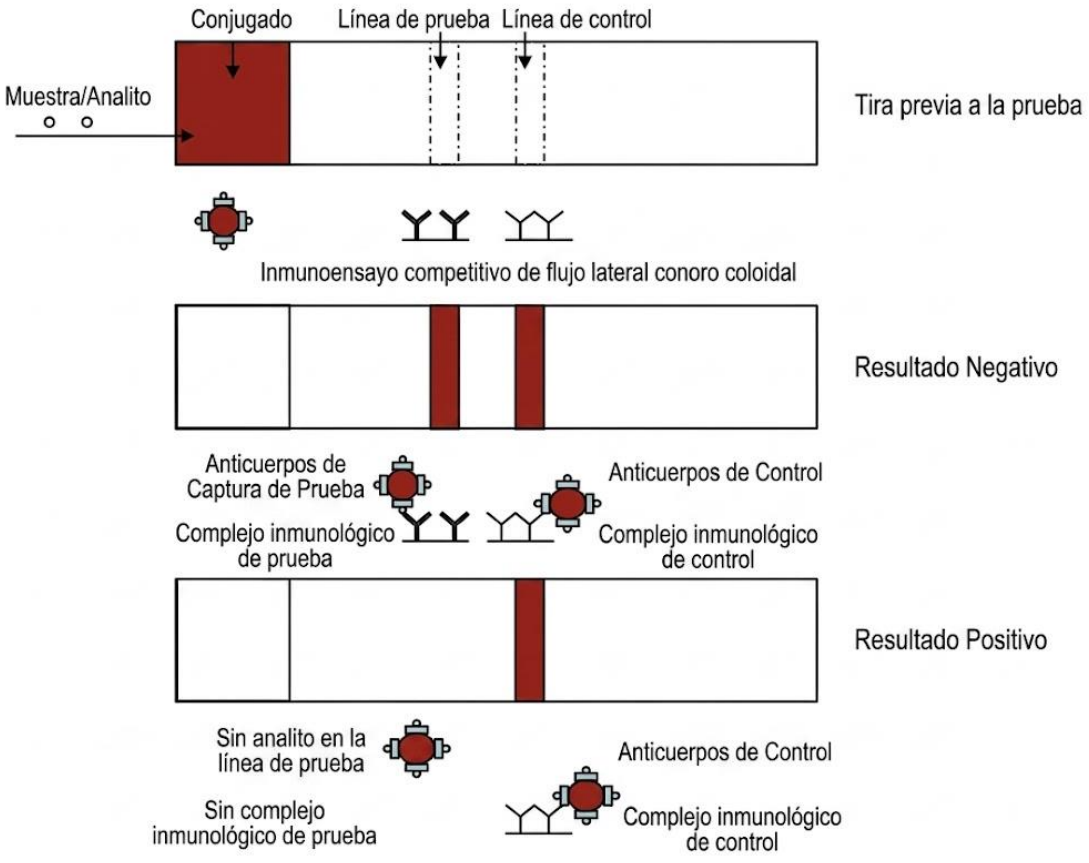
Para la detección analítica de moléculas de bajo peso molecular como los antibióticos betalactámicos y las tetraciclinas, las cuales poseen un único determinante antigénico que les impide unirse simultáneamente a dos anticuerpos, se requiere el empleo de un formato inmunoquímico de tipo competitivo o por inhibición (O'Farrell, 2009). Bajo este principio operativo, el antibiótico libre que se encuentra presente en la muestra de leche compite directamente con el antígeno homólogo que está inmovilizado en la línea de prueba de la membrana de nitrocelulosa por capturar los sitios de unión del conjugado marcado con oro coloidal. Para conocer a mayor detalle el mecanismo de interacción biológica y las zonas que componen la tira reactiva, véase la Figura 6.

Esta competencia molecular determina una interpretación inversa a los ensayos inmunológicos convencionales, estructurándose bajo las siguientes condiciones de lectura (O'Farrell, 2009):

- Resultado Negativo: Cuando la muestra de leche presenta ausencia de antibióticos, el oro coloidal conjugado migra y se une en su totalidad al antígeno inmovilizado en la membrana, generando una línea de prueba fuertemente coloreada y visible, acompañada siempre por la aparición de la línea de control.
- Resultado Positivo: Cuando la muestra contiene residuos de antibióticos en concentraciones iguales o superiores al límite de detección, el fármaco libre satura anticipadamente los sitios de unión del conjugado durante la migración; esto impide que el marcador se fije en la matriz de captura, provocando que la línea de prueba se muestre significativamente débil o ausente, mientras que la línea de control permanece visible.

Figura 6

Inmunoensayo competitivo en fase sólida



Nota. Representación del inmunoensayo competitivo, en donde un resultado negativo genera dos bandas reactivas en la matriz, mientras que un resultado positivo se caracteriza por la ausencia de bandas, ya que el analito presente satura los anticuerpos conjugados, lo que impide su captura. Extraído de O'Farrell, 2009.

Uso de oro coloidal como marcador en ensayos de screening

El oro coloidal constituye el marcador visual más utilizado en los ensayos comerciales de flujo lateral debido a sus excelentes propiedades ópticas y su estabilidad práctica en condiciones de campo (Chun, 2009). Asimismo, la popularidad de este componente en el mercado diagnóstico radica en su gran capacidad para generar una señal visual clara a lo largo de la matriz del ensayo (O'Farrell, 2009). Desde el punto de vista físico, consiste en una dispersión estable de partículas microscópicas de oro metálico que se mantienen suspendidas gracias a las fuerzas de repulsión de sus cargas eléctricas negativas, lo que evita que se agrupen o se sedimenten en el fondo (Chun, 2009). El método tradicional para su fabricación se basa en la reducción química con citrato de sodio en una solución en ebullición, provocando que los átomos de oro se nucleen de forma controlada y generen una coloración rojo-vino muy característica, cuya intensidad varía sutilmente según el tamaño final de la partícula lograda (Chun, 2009). Para que este conjugado particulado permita una interpretación precisa de los resultados en el papel reactivo, es un requisito fundamental que el sistema sea estrictamente monodisperso y que esté correctamente unido a los componentes biológicos correspondientes (O'Farrell, 2009).

Para cumplir con su función diagnóstica, las macromoléculas como los anticuerpos o las proteínas receptoras se adhieren a la superficie de estas esferas de oro mediante interacciones físicas y eléctricas. Durante este proceso de acoplamiento, el control del pH constituye una variable crítica para asegurar que las proteínas se enlacen perfectamente sin alterar la estabilidad coloidal ni provocar la floculación de la mezcla (Chun, 2009). Una vez

que las partículas han sido recubiertas con éxito, el complejo resultante demuestra una notable estabilidad tanto en estado líquido como seco sobre la tira, resistiendo la decoloración y otorgando al producto comercial una larga vida útil de hasta dos años sin necesidad de refrigeración constante (Chun, 2009).

En el control de calidad y tamizaje de antibióticos en la leche, el uso del oro coloidal ofrece ventajas operativas determinantes frente a otros marcadores enzimáticos o fluorescentes. Al acumularse densamente en las bandas de la tira reactiva, las partículas ofrecen una señal coloreada nítida que es perceptible directamente a simple vista, eliminando la obligatoriedad de emplear reactivos químicos adicionales para revelar el resultado (Chun, 2009). Sin embargo, debido a la versatilidad de este marcador particulado, el diseño de la prueba también permite que la matriz de reacción sea evaluada mediante el uso de un lector electrónico especializado (O'Farrell, 2009).

Sensibilidad y especificidad del Kit Bioeasy 3 en 1.

El kit Bioeasy es un método de cribado y su uso está basado en emplear tiras reactivas para identificar moléculas o sustancias que inhiben el crecimiento bacteriano (Duy, 2020). Este kit destaca por su capacidad de análisis en simultáneo, permitiendo así identificar de forma cualitativa la presencia de tres familias de antibióticos más importantes en la inocuidad alimentaria y salud bovina: beta-lactámicos, sulfonamidas y tetraciclinas (Duy, 2020). La principal ventaja de este tipo de análisis es su eficiencia operativa, ya que ofrece un diagnóstico rápido que se ejecuta en un tiempo de 9 minutos (Tipán, 2019). Un aspecto importante de este dispositivo es su sensibilidad, la cual ha sido calibrada para responder con precisión incluso ante concentraciones que se encuentran por debajo de los Límites Máximos de Residuos (LMR) exigidos por el *Codex Alimentarius* (Caracundo, 2019). En el caso de las tetraciclinas, tales como la oxitetraciclina y la doxiciclina, el kit reacciona en un rango de 30 a 50 ppb (Duy, 2020). Esta sensibilidad es más específica cuando se evalúa a la familia de beta-lactámicos,

logrando detectar penicilinas siendo su umbral mínimo de 2 a 4 ppb y a las cefalosporinas entre 12 a 100 ppb, dependiendo de la molécula específica (Duy, 2020). La robustez de estos ensayos cualitativos no es menor; diversas investigaciones han validado su fiabilidad al comparar sus resultados frente a tecnologías de alta complejidad cromatográfica, como la Cromatografía Líquida de Ultra Alta Resolución (Tipán, 2019). En definitiva, aunque este tipo de análisis tenga un bajo costo y se pueda ejecutar en una rutina, además de ser de fácil procedimiento, su precisión biológica lo vuelve un factor importante para evitar que el producto de animales bajo tratamiento médico comprometa la inocuidad alimentaria (Gálvez, 2011).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1.Tipo y nivel de investigación.

La investigación realizada es de tipo descriptiva, debido a que la finalidad está delimitada a evaluar y determinar la presencia natural de residuos de antibióticos en la leche cruda tal y como se presenta en sus condiciones habituales, sin alterar, manipular ni controlar deliberadamente las variables de estudio ni las dosis aplicadas en los establos.

La presente investigación corresponde a un diseño no experimental y de corte transversal. Es no experimental porque las variables se observan en su contexto real sin intervención directa del investigador, y es de corte transversal debido a que la recolección de los datos y la evaluación de la presencia de residuos de antibióticos se ejecutan en un periodo de tiempo específico y determinado.

3.2.Ámbito de estudio

El desarrollo operativo y el análisis de las muestras de la presente investigación se llevaron a cabo en dos establecimientos estratégicos de la provincia de Tacna, los cuales se detallan a continuación:

- Establecimiento “FONGAL Tacna”: Constituye el ámbito de campo y punto de recolección de las muestras biológicas. Este lugar fue elegido por ser el centro neurálgico donde se centraliza, acopia y comercializa de forma diaria la leche cruda procedente de las diversas rutas ganaderas de la cuenca lechera de la región, garantizando el acceso a lotes representativos de leche de mezcla en sus condiciones comerciales habituales.
- Laboratorio Clínico Biodiagnostik: Constituye el espacio analítico donde se procesaron las muestras. Es un establecimiento de salud privado ubicado en la provincia de Tacna,

el cual fue seleccionado por contar con la infraestructura idónea, las condiciones ambientales controladas y, de manera específica, con los equipos de incubación térmica automatizados indispensables para cumplir con los tiempos y temperaturas exigidas por el kit de ensayo para la correcta lectura de los residuos de antibióticos.

3.3.Población y Muestra

La población de estudio estuvo comprendida por la totalidad del volumen de leche cruda de vaca procedente de los diferentes establos ganaderos de la cuenca lechera de Tacna, la cual es centralizada de forma diaria para su comercialización como leche de mezcla en el establecimiento de atención y ventas del Fondo de Fomento Ganadero (FONGAL Tacna).

Se recolectaron un total de 30 muestras de leche cruda de vaca que se analizaron por duplicado, que fueron obtenidas de manera directa en el establecimiento de FONGAL Tacna. Debido a que el método de análisis empleado consiste en una prueba cualitativa de lectura rápida, se determinó que cada muestra física fuera procesada por duplicado. Esta metodología de doble repetición técnica permitió asegurar la repetibilidad del ensayo, evitar falsos resultados y garantizar la máxima confiabilidad en la lectura, completando así un total de 60 análisis experimentales ejecutados.

El cronograma de recolección y adquisición de la leche se estructuró de forma consecutiva durante las semanas que abarcó el periodo de investigación, realizando los muestreos de manera interdiaria los días lunes, miércoles y viernes. Las unidades muestrales fueron adquiridas tal y como se expendían comercialmente en el punto de venta, correspondiendo estrictamente a lotes de leche de mezcla del día.

Cabe precisar que el establecimiento de FONGAL Tacna cuenta con tres horarios definidos para la captación y acopio de la leche proveniente de los ganaderos: el primero en la mañana, aproximadamente a las 5:00 a. m.; el segundo al mediodía, a las 12:00 p. m.; y el

tercero en la tarde, entre las 5:00 p. m. y 6:00 p. m. Para efectos de esta investigación, la recolección de las muestras se realizó exclusivamente durante el horario de la mañana. Se determinó esta franja debido a que a esa hora ingresa el mayor volumen de leche fresca a las instalaciones y existe una mayor demanda y expendio del producto; por el contrario, en los turnos del mediodía y la tarde se constató el arribo de pocos porongos y, en algunos casos, la presencia de saldos o sobrantes del turno matutino, lo que restaba representatividad a la muestra.

Inmediatamente después de la compra, cada porción fue rotulada, protegida y trasladada de forma inmediata bajo una estricta cadena de frío hacia las instalaciones del "Laboratorio Clínico Biodiagnostik", establecimiento elegido por contar con los equipos de incubación térmica y la infraestructura analítica necesaria para el correcto desarrollo y lectura de las pruebas experimentales.

El tamaño de muestra fue de 30 debido a que fue determinado en función de la capacidad del método de análisis empleado. El Kit Bioeasy poseía la capacidad para analizar 96 muestras, de las cuales se realizaron los análisis por duplicado para evitar los falsos negativos, además, se tuvo que descartar los ensayos que no lograron detectar la línea de Control, por lo que esas pruebas inválidas fueron descartadas. Este tamaño de muestra es idóneo para un estudio descriptivo y exploratorio de una escala pequeña (Aguilar, 2020). Además, resulta suficiente para realizar la estimación haciendo uso de la Prueba de puntuación de Wilson, el cual garantiza intervalos válidos incluso con muestras reducidas (Newcombe, 1998).

3.4. Materiales y Equipos.

Material biológico

- Muestras de leche cruda comercializada en el FONGAL.

Materiales

- Kit de detección rápida Bioeasy 3 en 1 para residuos de antibióticos en leche
- Reactivos suministrados por el kit
- Pipetas automáticas con puntas estériles
- Gradilla para tubos
- Guantes, mascarilla y otros implementos de bioseguridad
- Viales de 2 mL

Equipos

- Baño María o Incubadora
- Cronómetro o temporizador

3.5.Procedimiento Experimental

Preparación de la muestra de leche cruda.

Las muestras de leche cruda fueron recolectadas directamente de los puntos de expendio comercial en presentaciones de 1 litro.

Protocolo de incubación y activación del kit.

Antes de iniciar el análisis, se conectó la incubadora y se estabilizó la temperatura hasta 40°C ±2°C, colocando dos micropocillos en la incubadora.

Una vez estabilizada la temperatura, se añadieron 200 µL de cada muestra de leche en el micropocillo reactivo, mezclando bien mediante 5 a 10 sucesiones. La mezcla se incubó por 3 minutos a 40°C. Transcurrido ese tiempo, se sumergió una tira de prueba en el micropocillo, la cual se incubó por 6 minutos adicionales a 40°C. Finalizado el período de incubación, se retiró la tira reactiva del micropocillo, se removió la esponja absorbente y se procedió a la interpretación visual de los resultados.

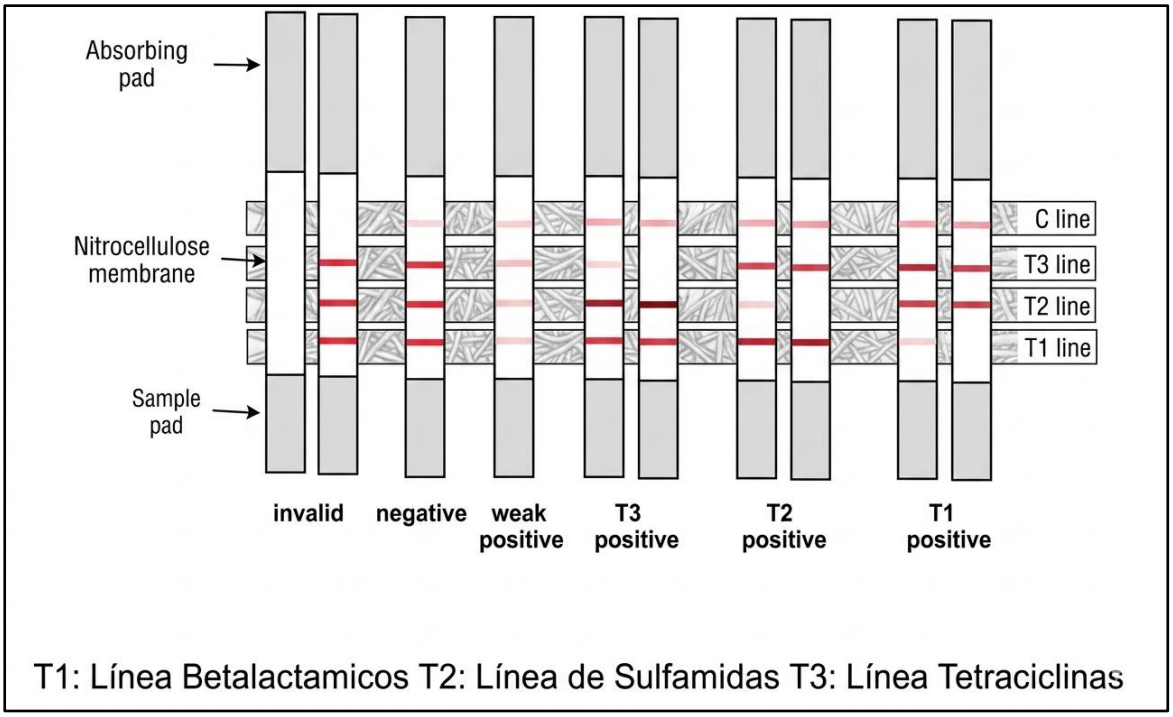
Interpretación visual de resultados (T1, T2, T3)

La interpretación de las tiras reactivas se realizó de manera visual mediante la comparación de la intensidad de las líneas de prueba con la línea de control, siguiendo los criterios de lectura del ensayo competitivo:

a. Validación del ensayo (Línea C): Como paso inicial y obligatorio, se verificó la presencia de la línea de control (C). Si esta línea no se revelaba de forma nítida, la prueba se declaraba automáticamente como inválida y se procedía a descartar la tira para repetir el análisis con una nueva muestra.
b. Resultado Negativo: Ocurre cuando las líneas de prueba T1, T2 y T3 desarrollan una intensidad de coloración igual o mayor a la mostrada por la línea de control (C). Esto indica que la muestra de leche cruda no contiene residuos detectables de ninguna de las tres familias de antibióticos evaluadas.
c. Resultado Positivo para ß-lactámicos (T1): Se determina cuando la línea de prueba T1 está completamente ausente o se manifiesta de forma visiblemente más tenue (débilmente positivo) en comparación con la línea de control (C), mientras que las líneas T2 y T3 permanecen con su coloración estándar. Esto confirma la presencia de residuos de esta familia biológica por encima o cerca de su límite de detección.
d. Resultado Positivo para Sulfonamidas (T2): Se manifiesta cuando la línea de prueba T2 está ausente o muestra una decoloración crítica o atenuación visible (débilmente positivo) frente a la línea C, manteniendo las líneas T1 y T3 su desarrollo cromático normal. Esto indica la presencia específica de residuos de sulfonamidas en la muestra.
e. Resultado Positivo para Tetraciclinas (T3): Se establece cuando la línea de prueba T3 se encuentra ausente o es drásticamente más tenue que la línea de control (C) (débilmente positivo), mientras que las líneas T1 y T2 se revelan con normalidad. Esto señala la existencia de residuos de tetraciclinas en la leche cruda evaluada.

Figura 7

Patrones de lectura para la detección rápida de ß-lactámicos, sulfonamidas y tetraciclinas



Nota. Adaptado del Manual de instrucciones del kit de prueba rápida, por Shenzhen Bioeasy Biotechnology, 2022.

Protocolo de análisis y criterios de interpretación

Con el fin de poder garantizar la validez y reproducibilidad de los datos, por cada muestra recolectada se realizaron dos ensayos consecutivos. Y para la interpretación del resultado final para cada muestra se basó en un criterio conservador para evitar resultados por falsos positivos, siguiendo el protocolo de la Tabla 5. Un caso donde se tuvo que utilizar el criterio estricto se detalla en el Anexo 5 (Figura A.5.1).

Tabla 5

Criterios de interpretación de resultados según sus réplicas de ensayo

Ensayo 1	Ensayo 2	Interpretación final
Negativo	Negativo	Negativo
Negativo	Positivo	Negativo
Positivo	Negativo	Negativo
Positivo	Positivo	Positivo

Nota. Elaboración propia. Criterio conservador aplicado para reducir la tasa de falsos positivos en ensayos inmunocromatográficos de naturaleza cualitativa.

3.6.Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se realizó usando estadística descriptiva para las variables cualitativas. Para la prevalencia general de antibióticos en las muestras y para cada familia de antibióticos evaluadas, ß-lactámicos, sulfonamidas y tetraciclinas; se determinaron las frecuencias absolutas y relativas.

Dada la naturaleza de la investigación, de carácter descriptivo con variables cualitativas dicotómicas y tener un tamaño de muestra igual a 30, la estimación de la prevalencia de residuos de antibióticos y el cálculo de la incertidumbre se optó por utilizar el Intervalo de Confianza (IC) del 95% bajo el Método de Puntuación de Wilson estándar.

Este método fue seleccionado por la fiabilidad frente a muestras pequeñas y su precisión superior respecto a otros estimadores asintóticos. Los métodos estadísticos convencionales presentan deficiencias metodológicas al producir intervalos simétricos que pueden derivar en errores, como límites inferiores negativos o límites superiores que exceden la unidad

(Newcombe, 1998). Estos límites son críticos para estudios en donde se tiene que analizar la sensibilidad o especificidad de pruebas de tamizaje o "*screening*".

El método de puntuación de Wilson garantiza que los límites de intervalo se mantengan siempre dentro de los rangos biológicos entre 0% y 100%.

Determinación del Intervalo de Confianza Estándar de Wilson (Newcombe, 1998)

$$IC_{Wilson} = \frac{2np + z^2 \pm z\sqrt{z^2 + 4npq}}{2(n + z^2)}$$

Donde:

n = Tamaño de la muestra

p = Proporción observada en la muestra (Casos positivos)

q = 1 – p (Casos negativos)

z = Valor crítico de la distribución normal estándar para el nivel de confianza elegido

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Análisis descriptivo de la presencia de residuos en las muestras recolectadas.

Para esta investigación se procesaron 30 muestras de leche cruda por duplicado, provenientes del comercio local FONGAL-Tacna. Con lo cual se obtuvo que el 46,67% de las muestras presentó residuos de al menos una familia de antibióticos, mientras que el 53,33% de las muestras dieron negativo a la presencia de alguna familia de antibiótico en estudio.

Tabla 6

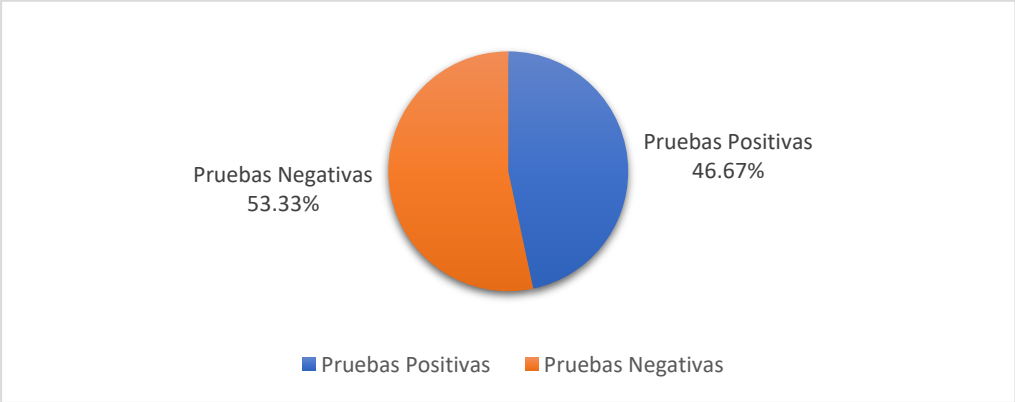
Frecuencia general de muestras con residuos antibióticos.

Estado de la muestra	Frecuencia	Porcentaje	IC 95% (Wilson)
Negativo	16	53,33%	[36,15% - 69,76%]
Positivo	14	46,67%	[30,24% - 63,86%]
Total	30	100,00%	

Nota. Elaboración propia. Intervalos de confianza al 95%, utilizando el método de puntuación de Wilson, extraído de Newcombe, 1998.

Figura 8

Prevalencia de residuos de antibióticos en muestras de leche



Nota. Elaboración propia.

La prevalencia general de residuos de antibióticos en las muestras de leche detectada, fue del 46,67%, como se puede observar en la Tabla 6 y la Figura 8. Con el fin de garantizar la incertidumbre de esta estimación debido al tamaño muestral, se calculó el Intervalo de Confianza al 95% utilizando el Método Wilson extraído de Newcombe, 1998.

Como se observa en la Tabla 6, el procedimiento estadístico permitió determinar que, para las muestras positivas, el intervalo de confianza es de 30,24% y 63,86%, mientras que, para el grupo de muestras negativas, el rango estimado se encuentra entre 36,15% y 69,76%. La adopción de este método asegura la fiabilidad del análisis estadístico, así evitando las imprecisiones de otros modelos estadísticos (Newcombe, 1998).

4.2. Prevalencia de residuos por familia de antibiótico

Al realizar las interpretaciones de los resultados por familia de antibióticos, se observó que, de las 14 muestras positivas para presencia de antibióticos, la familia de las Sulfonamidas tuvo la mayor presencia, estando presente en todas las muestras positivas. Además, no se registraron muestras positivas para la presencia de Tetraciclinas.

Es importante resaltar que se observó la presencia del uso de dos familias de antibiótico (Sulfonamidas y ß-Lactámicos) en el 57,14% de las muestras positivas; además es importante destacar que no se registraron muestras positivas exclusivas para ß-Lactámicos, esta familia siempre estuvo acompañada por la presencia de Sulfonamidas. Estos datos se pueden observar en la Tabla 8. La evidencia visual para la ausencia de coloración en las bandas de la tira reactiva se detalla en el Anexo 5 (Figura A.5.3).

Tabla 7

Prevalencia de residuos de antibióticos por familia en muestras de leche cruda

Familia de antibiótico	Muestras positivas	Prevalencia	IC 95%
Sulfonamidas	14/30	46,67%	[30,24% – 63,86%]
ß-Lactámicos	8/30	26,67%	[14,15% – 44,45%]
Tetraciclinas	0/30	0,00%	[0,00% – 11,4%]

Nota. Elaboración propia. Intervalos de confianza al 95%, utilizando el método de puntuación de Wilson.

Tabla 8

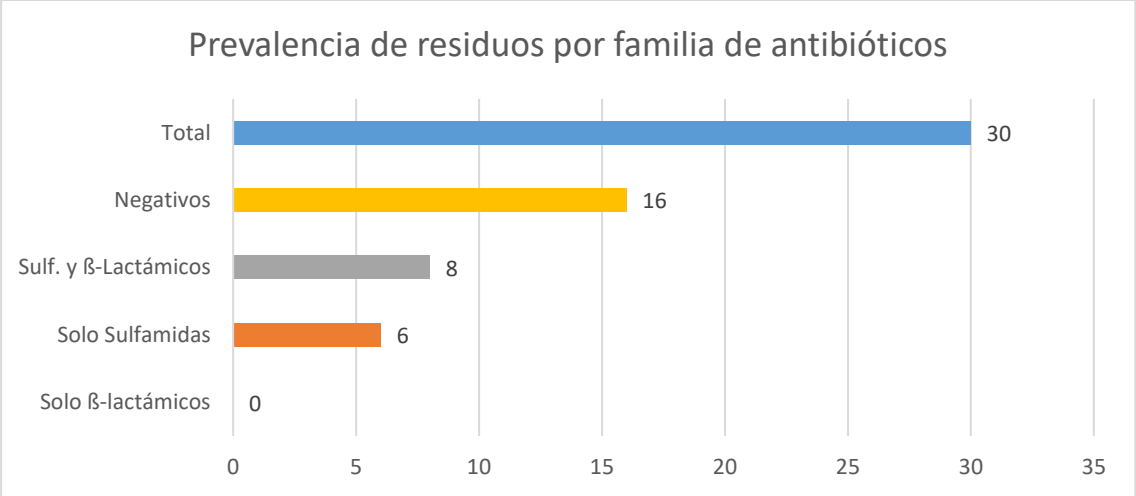
Frecuencia y patrones de co-ocurrencia de residuos de antibióticos en las muestras analizadas.

Categoría de hallazgo	Frecuencia	Porcentaje	IC 95%
Solo Sulfonamidas	6	20,00%	[9,47% – 37,93%]
Sulfonamidas y ß-Lactámicos	8	26,67%	[14,15% – 44,45%]
Solo ß-Lactámicos	0	0,00%	[0,00% – 11,4%]
Pruebas Negativas	16	53,33%	[36,15% – 69,76%]
Total	30	100,00%	

Nota. Elaboración propia

Figura 9

Distribución de residuos según familia de antibióticos y casos de uso doble de antibióticos



Nota. Elaboración propia.

Como se observa en la Tabla 8 y Figura 9, la presencia de doble residuo de antibióticos, en este caso fue de Sulfonamidas y ß-Lactámicos, representa el patrón predominante de las muestras positivas 26,67% con un intervalo de confianza de 14,15% y 44,45%. Asimismo, las muestras positivas exclusivamente para sulfonamidas alcanzaron el 20,00%, tal como se registra en el Anexo 5 (Figura A.5.2). Este hallazgo es relevante por la ausencia de muestras positivas de Solo ß-Lactámicos, solo en conjunto con las Sulfonamidas. Este patrón de presencia de doble familia sugiere un patrón de uso combinado de antibióticos.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

En la presente investigación, se determinó una prevalencia general de residuos de antibióticos del 46,67% en leche cruda proveniente del FONGAL Tacna. Este resultado resume el estado global de las muestras, las cuales fueron evaluadas mediante un enfoque analítico estricto (Tabla 5), que requirió la concordancia entre réplicas consecutivas para priorizar la especificidad del diagnóstico. Dada la variabilidad estadística inherente al alcance del estudio, se aplicó el método de puntuación de Wilson al 95% de confianza; esta herramienta permite gestionar la imprecisión propia del muestreo, estableciendo un rango de prevalencia estimado entre el 30,24% y el 63,86% para las muestras positivas.

Al contrastar estos resultados con los antecedentes regionales, se observa una diferencia cuantitativa respecto a lo reportado por Aguilar (2020), quien obtuvo un 30% de positividad en las muestras tomadas en distintos mercados de la ciudad de Tacna, y Gálvez (2011), que detectó un 18,7% de muestras positivas a sustancias antimicrobianas. Estas variaciones podrían reflejar cambios en las dinámicas de manejo sanitario y en la adopción de protocolos terapéuticos a lo largo de los años en la región.

Es importante destacar que el FONGAL, al ser un centro de acopio y comercialización local, representa un punto estratégico para el monitoreo de la calidad láctea. La identificación de estos residuos es fundamental para abordar los desafíos de salud pública y mitigar el riesgo de resistencia antimicrobiana.

Al separar la prevalencia por familias de antibióticos, como se observó en la Tabla 7, se evidencia una distribución heterogénea donde las sulfonamidas predominan en el 46,67% de las muestras, con un intervalo de confianza al 95% del 30,24% al 63,86%, mientras que las Tetraciclinas presentan una ausencia total. Este hallazgo contrasta con lo reportado por Aguilar

(2020), quien identificó una presencia significativa de tetraciclinas del 20%, lo que sugiere una evolución en las prácticas terapéuticas locales. Por lo que podemos deducir que el uso de Tetraciclinas parece haber sido disminuido siendo reemplazado por un predominio absoluto de las Sulfonamidas y, en menor medida, de los β-lactámicos, los cuales alcanzaron una prevalencia del 26,67%.

Un análisis de los patrones de co-ocurrencia, detallado en la Tabla 8 y la Figura 9, revela que la presencia de residuos no es un evento aislado, sino un fenómeno complejo de uso múltiple de antibióticos. El patrón más frecuente es la asociación de Sulfonamidas y β-lactámicos con un 26,67%, mientras que no se detectaron casos de β-lactámicos exclusivos, resultando en una prevalencia de 0,00% con un intervalo de confianza al 95% cuyo límite máximo alcanza el 11,4%. El hecho de que los β-lactámicos aparezcan siempre junto a las sulfonamidas sugiere que es una práctica común de administrar ambos antibióticos de forma simultánea.

La administración conjunta de estos agentes es una estrategia reconocida en medicina veterinaria para ampliar el espectro antibacteriano o tratar infecciones de etiología mixta (Sumano et al., 2015). La interacción farmacocinética entre ambas familias se describe de la siguiente forma: las sulfonamidas prolongan los niveles sanguíneos de los β-lactámicos al competir por los mismos mecanismos de excreción renal (Sumano et al., 2015). Esta dinámica explica la doble detección persistente en las muestras y sugiere que ambos compuestos fueron administrados de manera deliberada o secuencial previo al momento del muestreo.

Desde el punto de vista de la salud pública, este hallazgo es fundamental. A diferencia de lo que reportó Gálvez (2011), cuando la presencia de residuos era más dispersa, los datos en la Tabla 8 apuntan hacia una tendencia clara en el uso de tratamientos combinados. Esta práctica no solo aumenta el riesgo de que las bacterias desarrollen resistencia múltiple en el

ganado y su entorno, sino que también complica la seguridad alimentaria, ya que exponer a las personas a residuos múltiples hace mucho más difícil evaluar los riesgos toxicológicos. Como se observa en la Figura 9, el hecho de que no aparezcan muestras positivas únicamente para β-lactámicos constituye el hallazgo central de la presente investigación. Esto refuerza la idea de que las Sulfonamidas se han convertido en la base del tratamiento en el FONGAL.

En el ámbito nacional, en un primer estudio titulado *"Frecuencia de ß-lactámicos y tetraciclinas en leche fresca en la cuenca de Arequipa*", se analizaron muestras provenientes de la cuenca lechera de Arequipa, reportando una prevalencia del 16,1%; sin embargo, este estudio fue realizado en un contexto de mayor escala, por ello tuvo un mayor tamaño muestral (Ortiz et al., 2008). En la misma región, en la investigación titulada *"Recuento de células somáticas en leche contaminada con residuos de antibióticos"*, se analizaron las muestras de leche y encontraron una tasa de prevalencia del 3,3%, resultado consistente con la hipótesis de que la implementación de controles más rigurosos en la cadena productiva se asocia con una menor prevalencia de residuos antimicrobianos (Ortiz et al., 2011). Por otro lado, en la investigación titulada *"Evaluación de la presencia de residuos de antibióticos en leche cruda acopiada y del plan de control en la región Cajamarca"* se registraron casos positivos acumulados en siete años, con un predominio de β-lactámicos (96,89%), mientras que las Tetraciclinas tuvieron una presencia de 3,11% (De la Flor, 2024). En el estudio titulado *"Determinación de residuos de antibióticos (sulfamidas, quinolonas y aminoglucósidos) en la leche cruda en los distritos de Pichigua y Pomacanchi de la región de Cusco",* se realizó un estudio de dos centros de acopio, en donde se empleó un panel de kits ECLIPSE 100, SulfaSensor, QuinoSensor y 3AminoSensor, el cual detectó sulfonamidas, quinolonas y aminoglucósidos; siendo las Sulfonamidas con mayor prevalencia de hasta 26% lo que contrasta con el perfil hallado en el presente estudio (Matheus, 2023).

A nivel internacional, el estudio denominado *"Determinación de antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas en la leche cruda de pequeños productores"*, fue realizado en Cañar, Ecuador, haciendo uso también del Kit Bioeasy 3 en 1, se reportó una prevalencia del 61%, donde predominaron las Sulfonamidas (48%), seguidas de β-lactámicos (30%) y tetraciclinas (22%) (Duy, 2020). Este patrón guarda una notable similitud con los resultados del presente estudio, tanto en la magnitud de la contaminación como en la familia de antibióticos predominante, siendo ambos estudios desarrollados en contextos de producción lechera de pequeña escala. Dicha coincidencia podría responder a dinámicas comunes de acceso, costo y disponibilidad de insumos veterinarios, tal como ha sido señalado en contextos similares de ganadería latinoamericana. En el proyecto experimental *"Determinación de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en la leche cruda comercializada"* realizado en Cuenca, Ecuador, se utilizó un kit 2 en 1 Bioeasy en las muestras y reportó una prevalencia del 26%, con mayor presencia de β-lactámicos (22,8%) sobre tetraciclinas (2,6%) (Caracundo, 2019). Mientras que en el estudio "*Residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en la región Tierra Caliente, de Guerrero, México*", se halló un 18,60% de positivos (Camacho Díaz et al., 2010). En la investigación denominada "*Determinación de residuos de antibióticos ß-lactámicos en leche cruda comercializada en cuatro ciudades del Departamento Central, República del Paraguay*", se registró apenas un 3% de prevalencia (Sandoval, 2017), lo que ubica los resultados del presente estudio notablemente por encima de los valores reportados en contextos con mayor supervisión regulatoria. Finalmente, en la investigación "*Antibióticos en leche fresca bovina y el riesgo para la salud humana en Chitré, Panamá"*, no se detectaron residuos en el total de muestras analizadas, resultado que los autores atribuyen al cumplimiento estricto de los períodos de retiro por parte de los proveedores (De León & Camarena, 2025). Aunque este hallazgo sugiere que una reducción sustancial de la contaminación es alcanzable

bajo condiciones adecuadas de vigilancia y educación veterinaria, debe interpretarse con cautela dado el tamaño muestral limitado del estudio.

Al comparar estos estudios con lo que se encontró en la presente investigación, queda claro que determinar la presencia de las familias de Sulfonamidas y ß-lactámicos juntos en las muestras del FONGAL no es un caso único. Al contrario, refleja una forma de trabajar donde el uso exagerado de medicinas y el incumplimiento de los tiempos de retiro son problemas cotidianos, que también se repiten en las zonas ganaderas de Ecuador, Arequipa y Cusco. Estas diferencias en los resultados no solo se deben al manejo de los animales ganaderos en cada establo, sino también a los distintos métodos que se usaron para analizar los antibióticos. Estos van desde pruebas rápidas de campo hasta análisis de laboratorio que miden con total precisión la presencia de diversos antibióticos a la vez. Es importante aclarar que en la presente investigación se utilizó un kit rápido que analiza de forma cualitativa indicando la ausencia o presencia, por lo que el porcentaje real de contaminación podría ser mayor si es que existían pequeñas cantidades de antibiótico que la prueba no logró detectar. En resumen, todo esto demuestra que la situación en el FONGAL requiere un plan de control constante y apoyo técnico para corregir el mal uso de los medicamentos directamente desde las granjas.

Las sulfonamidas se utilizan como agentes bacteriostáticos, lo que permite que el propio sistema inmunitario del animal se encargue de erradicar la infección. En la terapéutica bovina, las sulfonamidas más empleadas son la sulfametazina, sulfaclorpiridacina, sulfadiazina/trimetoprima y sulfametoxazol/trimetoprima, las cuales son utilizadas debido a la susceptibilidad de diversos microorganismos patógenos causantes de las enfermedades más comunes en el ganado lechero. Entre ellas destacan la mastitis bovina ocasionada por *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium pyogenes* y especies de *Klebsiella*. Asimismo, se emplean contra cuadros respiratorios crónicos y neumonías causadas por *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytica*, así como en afecciones de origen entérico como la colibacilosis

producida por *Escherichia coli* y la coccidiosis. Al ser patologías de alta incidencia en sistemas de pequeña producción, los ganaderos recurren frecuentemente a estos fármacos, lo que incrementa el riesgo de contaminación de la leche si se omiten los periodos de retiro (Sumano et al., 2015).

Por otro lado, los β-lactámicos de mayor uso en la ganadería bovina incluyen la penicilina G, amoxicilina, ampicilina, ceftiofur, cefapirina, cefquinoma y cefovecina. Estos principios activos se emplean comúnmente para tratar casos de mastitis causados por *Streptococcus* sp., neumonías, infecciones respiratorias, pierna negra ocasionada por el género *Clostridium*, así como protocolos de profilaxis y el tratamiento de la necrobacilosis interdigital producida por *Fusobacterium necrophorum* y *Bacteroides melaninogenicus* (Sumano et al., 2015).

Sin embargo, en el campo es frecuente el uso simultáneo de múltiples antibióticos. Cuando se combinan penicilinas con sulfonamidas, ocurre una interferencia farmacocinética donde ambos compuestos compiten por las mismas vías de excreción renal. Esta incompatibilidad competitiva prolonga de manera anómala las concentraciones de los fármacos en el torrente sanguíneo y retrasa su depuración, lo que extiende el periodo de carencia y eleva significativamente el riesgo de detectar dobles residuos en la leche de ordeño (Sumano et al., 2015) (**Anexo 7**).

La prevalencia general expuesta en esta investigación sobre los proveedores de FONGAL Tacna es un reflejo directo de problemas en el manejo sanitario de los sistemas de pequeña y mediana producción. Una de las causas fundamentales de este alto porcentaje es el limitado conocimiento de los productores respecto al periodo de retiro. Como señala Gálvez (2011), muchos ganaderos no separan a sus vacas durante el tratamiento ni respetan los tiempos de espera comerciales. A esto se suma la presión económica de no querer descartar la leche

contaminada con residuos de antibióticos, al ser considerado esto una pérdida financiera inmediata que el pequeño productor intenta evitar, enviando el producto al mercado para no afectar su sustento diario.

El uso exagerado de antimicrobianos sin un diagnóstico veterinario explica por qué las sulfonamidas aparecieron en el 100% de las muestras positivas. En las ganaderías altoandinas, Duy Tenesaca (2020) menciona que aplicar fármacos se ha vuelto una costumbre basada en la experiencia empírica, donde se medica ante cualquier síntoma sin entender cuánto dura el medicamento en el animal. Esto empeora por la automedicación masiva; como afirma Caracundo (2019), los antibióticos se compran libremente en las tiendas sin necesidad de una receta médica. Al ser insumos baratos y fáciles de conseguir en la región andina, las sulfonamidas se convierten en la primera opción del productor, lo que justifica su presencia absoluta en este estudio.

Por otra parte, el 57,14% de presencia de dos familias de antibióticos a la vez se vincula directamente con la falta de asesoría técnica y el mal manejo de la mastitis. Gálvez (2011) indica que la aplicación de antibióticos por vía intramamaria es más económica y de fácil administración; además, debido a que usualmente no se suele consultar con un profesional, se cometen errores graves en el registro de los animales tratados. Además, un factor crucial en el contexto local es que los proveedores del FONGAL Tacna provienen de diversas zonas altoandinas de la región. El acopio diario de leche desde puntos geográficamente tan dispersos representa un enorme desafío logístico, lo que dificulta que la empresa pueda realizar un control sanitario estricto y un monitoreo continuo a cada productor.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

- Se determinó la presencia de residuos de antibióticos en la leche cruda de vaca comercializada por el FONGAL Tacna, obteniendo una prevalencia general del 46,67%.
- En cuanto a la identificación de familias de antibióticos, se determinó que las Sulfonamidas representaron la mayor prevalencia en las muestras positivas, estando presentes en el 46,67% del total de muestras. Mientras que los ß-lactámicos se detectaron en conjunto con la presencia de Sulfonamidas, con una prevalencia del 26,67% del total de muestras analizadas. Además, cabe recalcar que no se detectó la presencia de la familia de las Tetraciclinas.
- El patrón de la doble presencia de antibióticos es del 57,14% de las muestras positivas.

RECOMENDACIONES

- Para futuras investigaciones se recomienda implementar métodos cuantitativos para determinar las concentraciones exactas de residuos de antibióticos y poder confirmar si superan los Límites Máximos de Residuos en la normativa peruana o la internacional.

- Identificar los antibióticos de manera individual, debido a que cada antibiótico tiene su propio LMR, esto debido a que el Kit Bioeasy solo detecta los antibióticos por familia.

- Incorporar otras familias de antibióticos que se usan comúnmente en la ganadería, tales como los aminoglucósidos o quinolonas.

- Utilizar un tamaño muestral más grande para tener valores estadísticos más precisos.

- Realizar una trazabilidad desde el proveedor de leche, para llegar al problema de origen y focalizar las intervenciones sanitarias desde el establo de procedencia.

- Establecer un monitoreo periódico a lo largo del tiempo, esto permitirá estudiar tendencias temporales o por estación.

- Las entidades competentes, como el SENASA, deben capacitar a los pequeños ganaderos sobre las Buenas Prácticas Ganaderas e informar sobre los LMR regulados por la DIRESA, informando las consecuencias que acarrean el incumplimiento de esta normativa según la legislación peruana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar, L. (2019). *Residuos de antibióticos en leche cruda de vaca comercializada y su relación con las características fisicoquímicas en el distrito de Tacna, 2019.* Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

Akers, R., & Denbow, D. (2025). *Anatomy and physiology of domestic animals* (Tercera ed.). John Wiley & Sons.

Brown, K., Call, D., Omulo, S., & Mugoh, M. (2020). Antibiotic residues and antibiotic-resistant bacteria detected in milk marketed for human consumption in Kibera, Nairobi. *PLOS ONE*. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233413

Brown, M. C. (2009). Antibodies: Key to a Robust Lateral Flow Immunoassay. En R. C. Wong, & H. Y. Tse, *Lateral Flow Immunoassay* (págs. 59-74). Humana Press.

Brunton, L. L., & Knollmann, B. C. (2023). *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica* (14a ed.). McGraw-Hill Interamericana eBooks.

Camacho Díaz, L., Cipriano Salazar, M., Cruz Lagunas, B., Gutiérrez Segura, I., Hernández Ruiz, P., Peñaloza Cortez, I., & Nambo Martínez, O. (2010). Residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en la región Tierra Caliente, de Guerrero, México. *Revista electrónica de Veterinaria, 11*(2), 1695-7504.

Caracundo, E. (2019). *Determinación de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en la leche cruda comercializada.* Universidad Politécnica Salesiana.

Chun, P. (2009). Colloidal Gold and Other Labels for Lateral Flow. En R. C. Wong, & H. Y. Tse, *Lateral flow immunoassay* (págs. 75-94). Humana Press.

Coello-Cedeño, D. (2021). Oportunidades para los productos naturales en el descubrimiento de nuevos antibióticos. *SciTechnol, 2*, 12-17.

Costa, L., Gebara, C., Zacaroni, O., Freitas, N., Silva, A., Prado, C., Nunes, I., Cavicchioli, V., Duarte, F., Lage, M., Alencar, F., Machado, B., Hodel, K., & Minafra, C. (2024). Antibiotic Residues in Raw Cow's Milk: A Systematic Review of the Last Decade. *Foods, 13*(23), 3758. https://doi.org/10.3390/foods13233758

Davidson, A., & Stabenfeldt, G. (2020). The Mammary Gland and Lactation. En B. Klein, *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology* (Sexta ed.). Elsevier.

De la Flor, E. D. (2024). *Evaluación de la presencia de residuos de antibióticos en leche cruda acopiada y del plan de control en la Región Cajamarca.* Universidad Nacional de Cajamarca.

De León, R., & Camarena, F. (2025). Antibióticos en leche fresca bovina y el riesgo para la salud humana. *Revista Científica de la Universidad Especializada de las Américas*(17), 296-317. https://doi.org/10.57819/k18h-5r36

Duy, J. (2020). *Determinación de antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas en la leche cruda de pequeños productores.* Universidad Politécnica Salesiana.

FAO. (2021). Codex Alimentarius. *Directrices para el seguimiento y la vigilancia integrados de la resistencia a los antimicrobianos transmitida por los alimentos*. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/themes/antimicrobial-resistance/es/

Gálvez, J. (2011). *Residuos antimicrobianos en leche bovina de los proveedores de FONGAL - Tacna.* Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

Gaohua, L., Miao, X., & Dou, L. (2021). Crosstalk of physiological pH and chemical pKa under the umbrella of physiologically based pharmacokinetic modeling of drug absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity. *Expert Opinion on Drug*

Metabolism & Toxicology, 17(9), 1103-1124. https://doi.org/10.1080/17425255.2021.1951223

Haseeb, F., Saleem, M., Durrani, A., Chaudhry, A., Azhar, M., Abbas, G., Ahmad, H., Mukhtiar, M., Ara, A., & Hussain, I. (2023). Comparative study to detect antibiotic residues in processed and raw milk in Lahore. *Pakistan Journal of Science, 75*(4), 697-709.

Imperiale, F., & Lanusse, C. (2021). The pattern of blood–milk exchange for antiparasitic drugs in dairy ruminants. *Animals, 11*(10), 2758. https://doi.org/10.3390/ani11102758

Linzell, J. L., & Peaker, M. (1971). Mechanism of milk secretion. *Physiological Reviews, 51*(3), 564-597. https://doi.org/10.1152/physrev.1971.51.3.564

Mangalgiri, K. P., Ibitoye, T., & Blaney, L. (2022). Molar absorption coefficients and acid dissociation constants for fluoroquinolone, sulfonamide, and tetracycline antibiotics of environmental concern. *The Science of The Total Environment, 835*. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155508

Matheus, S. (2023). *Determinación de residuos de antibióticos (sulfamidas, quinolonas y aminoglucósidos) en la leche cruda en los distritos de Pichigua y Pomacanchi de la región de Cusco.* Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Ministerio de Salud. (03 de Junio de 2016). Resolución Ministerial N°372-2016/MINSA. *Norma Sanitaria que establece los Límites Máximos de Residuos (LMR) de medicamentos veterinarios en alimentos de consumo humano*. Lima, Perú: DIGESA.

Newcombe, R. (1998). Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat Med, 17*(8), 857-872. https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0258(19980430)17:8<857::aid-sim777>3.0.co;2-e.

Noa, E., Noa, M., González, D., Landeros, P., & Reyes, W. (2009). Evaluación de la presencia de residuos de antibióticos y quimioterapéuticos en leche en Jalisco, México. *Revista de Salud Animal, 31*(1), 29-33.

O'Farrell, B. (2009). Evolution in Lateral Flow–Based Immunoassay Systems. En R. C. Wong, & H. Y. Tse, *Lateral Flow Immunoassay* (págs. 1-34). Humana Press.

Organismo Supervisor de las Contrataciones del Estado. (2019). *Sistema Electrónico de Contrataciones del Estado*. https://prod2.seace.gob.pe/seacebus-uiwd-pub/buscadorPublico/buscadorPublico.xhtml

Ortiz , C., Concha, A., & Cayro, J. (2011). Recuento de células somáticas en leche contaminada con residuos de antibióticos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 2*(22), 151-154.

Ortiz, C., Vera, R., & Cayro, J. (2008). Frecuencia de β-lactámicos y tetraciclinas en leche fresca en la cuenca de Arequipa. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 19*(2), 140-143. https://doi.org/1609-9117

Papich, M. (2018). **β**-Lactam Antibiotics: Penicillins, Cephalosporins, and Related Drugs. En J. Riviere, & M. Papich, *Veterinary pharmacology and therapeutics.* John Wiley & Sons.

Papich, M., & Riviere, J. (2018). Tetracycline Antibiotics. En J. Riviere, & M. Papich, *Veterinary pharmacology and therapeutics.* John Wiley & Sons.

Pogurschi, E., Ciric, A., Zugrav, C., & Patrascu, D. (2015). Identification of Antibiotic Residues in Raw Milk Samples Coming from the Metropolitan Area of Bucharest. *Agriculture and Agricultural Science Procedia, 6*, 242-245. https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2015.08.066

Radio Uno. (Junio de 2017). *Fongal Tacna recomienda a la población el consumo de leche pasteurizada*. https://radiouno.pe/noticias/63708/fongal-tacna-recomienda-poblacion-consumo-leche-pasteurizada/

Reece, W., & Rowe, E. (2017). *Functional anatomy and physiology of domestic animals* (Quinta ed.). Wiley-Blackwell.

Riviere, J. (2018). Absorption, Distribution, Metabolism, and Elimination. En J. Riviere, & M. Papich, *Veterinary Pharmacology and Therapeutics* (Décima ed.). John Wiley & Sons.

Roy, D., Ye , A., Moughan, P., & Singh, H. (2020). Composition, Structure, and Digestive Dynamics of Milk From Different Species—A Review. *Front. Nutr.*, 7:577759. https://doi.org/10.3389/fnut.2020.577759

Salas, P., Calle, S., Falcón, N., Pinto, C., & Espinoza, J. (2013). Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos mediante un ensayo inmunoenzimático en leche de vacas tratadas contra mastitis. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 24*(2), 252-255. https://doi.org/10.15381/rivep.v24i2.2519

Sandoval, A., Dinatale, F., Enciso, E., & Acosta, P. (2017). Determinación de residuos de antibióticos β-lactámicos en leche cruda comercializada en cuatro ciudades del Departamento Central, República del Paraguay. *Compendio de Ciencias Veterinarias, 1*, 21-247. https://doi.org/10.18004/compend.cienc.vet.2017.07.01.21-24

SENASA. (2014). Guía de Buenas Prácticas Ganaderas.

Suárez, M. (2003). *Caracterización del Programa del Vaso de Leche.* Dirección General de Asuntos Económicos y Sociales del Ministerio de Economía y Finanzas.

Sumano, H., Ocampo, L., & Gutiérrez, L. (2015). *Farmacología Veterinaria 4a edición.* McGraw-Hill Interamericana.

Tasci, F., Canbay, H., & Doganturk, M. (2021). Determination of antibiotics and their metabolites in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. *Food Control, 127*. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108147

Tipán, A. R. (2019). *Trazabilidad de antibióticos β-lactámicos en el centro de acopio lechero "Toni" Guaranda, mediante técnicas cromatográficas.* Universidad Estatal de Bolívar.

Triola, M. (2018). *Estadística* (Décimosegunda ed.). Pearson.

Wellnitz, O., & Bruckmaier, R. M. (2021). Invited review: The role of the blood–milk barrier and its manipulation for the efficacy of the mammary immune response and milk production. *Journal of Dairy Science, 104*(6), 6376–6388. https://doi.org/10.3168/jds.2020-20029

ANEXOS

Anexo 1. Marcos Normativos y Límites Máximos de Residuos (LMR)

Tabla A.1.

Tabla comparativa de Límites Máximos de Residuos (LMR) establecidos por el Codex Alimentarius, FDA y la Normativa Peruana (MINSA/DIGESA)

Familia	Antibiótico	LMR Codex (µg/L)	LMR FDA (µg/L)	LMR Perú (µg/L)
β-lactámicos	Amoxicilina	4	*Tolerancia cero**	4
	Ampicilina	*No establecido en leche*	*Tolerancia cero**	4
	Bencilpenicilina	4	*Tolerancia cero**	4
	Cloxacilina	*No establecido*	*Tolerancia cero**	30
	Hetacilina	*No establecido*	*Tolerancia cero**	*No establecido*
	Ceftiofur	100	100	100
	Cefapirina	*No establecido*	20	*No establecido*
Sulfonamidas	Sulfadimidina	25	*Tolerancia cero**	25
	Sulfadimetoxina	*No establecido*	*Tolerancia cero**	*No establecido*
Tetraciclinas	Clortetraciclina	100 (IDA grupal)	300 (IDA grupal)	100
	Oxitetraciclina	100 (IDA grupal)	300 (IDA grupal)	100
	Tetraciclina	100 (IDA grupal)	300 (IDA grupal)	100

Nota: Los valores numéricos representan los Límites Máximos de Residuos (LMR) permitidos en leche, están expresados en µg/L. La mención *No establecida*, indica la ausencia del Límite específico según las normativas. **Tolerancia cero*: Es la prohibición absoluta de cualquier residuo detectable del antibiótico en leche comercial.

Anexo 2. Especificaciones Técnicas, Equipos y Materiales de Laboratorio

Tabla A.2.

Relación de equipos, reactivos y materiales utilizados en la fase experimental

Categoría	Componente	Marca/Modelo	Procedencia
Equipos	Analizador de Química Semiautomático (empleado como Incubadora)	Genrui / WP21A	China
	Cronómetro	Digital	Genérico
Reactivos	Kit de detección rápida 3 en 1 para residuos de antibióticos en leche	Bioeasy	China
	Reactivos suministrados por el kit	Bioeasy	China
Materiales	Pipeta automática de 200 µL	Bioeasy	China
	Puntas estériles para pipeta	Bioeasy	China
	Gradilla para tubos	Plástica / Metal	Genérico
	Implementos de bioseguridad (Guantes, mascarilla y otros)	EPP Genérico	Genérico

Nota: Elaboración propia.

Anexo 3. Tabla con los LMR de detección de residuo de antibiótico del Kit Bioeasy

Tabla A.3.

Límites de detección (LOD) analítica y umbrales de sensibilidad provistos por el fabricante del Kit Bioeasy 3 en 1.

Familia	Antibiótico	LMR Bioeasy (µg/kg)
ß-lactámicos	Amoxicilina	3-4
	Ampicilina	3-4
	Nafcilina	20-30
	Oxacilina	8-12
	Penicilina G	1,5-2
	Cloxacilina	6-10
	Dicloxacilina	6-12
	Cefalonio	6-12
	Cefazolina	40-60
	Cefoperazona	2-4
	Cefquinoma	12-18
	Ceftiofur	80-100
	Cefapirina	6-12
Tetraciclinas	Clortetraciclina	30-50
	Oxitetraciclina	30-50
	Doxiciclina	30-50
	Tetraciclina	30-50
Sulfonamidas	Sulfadiazina	2-5
	Sulfadimetoxina	12-24

Tabla A.3. *(Continuación)*

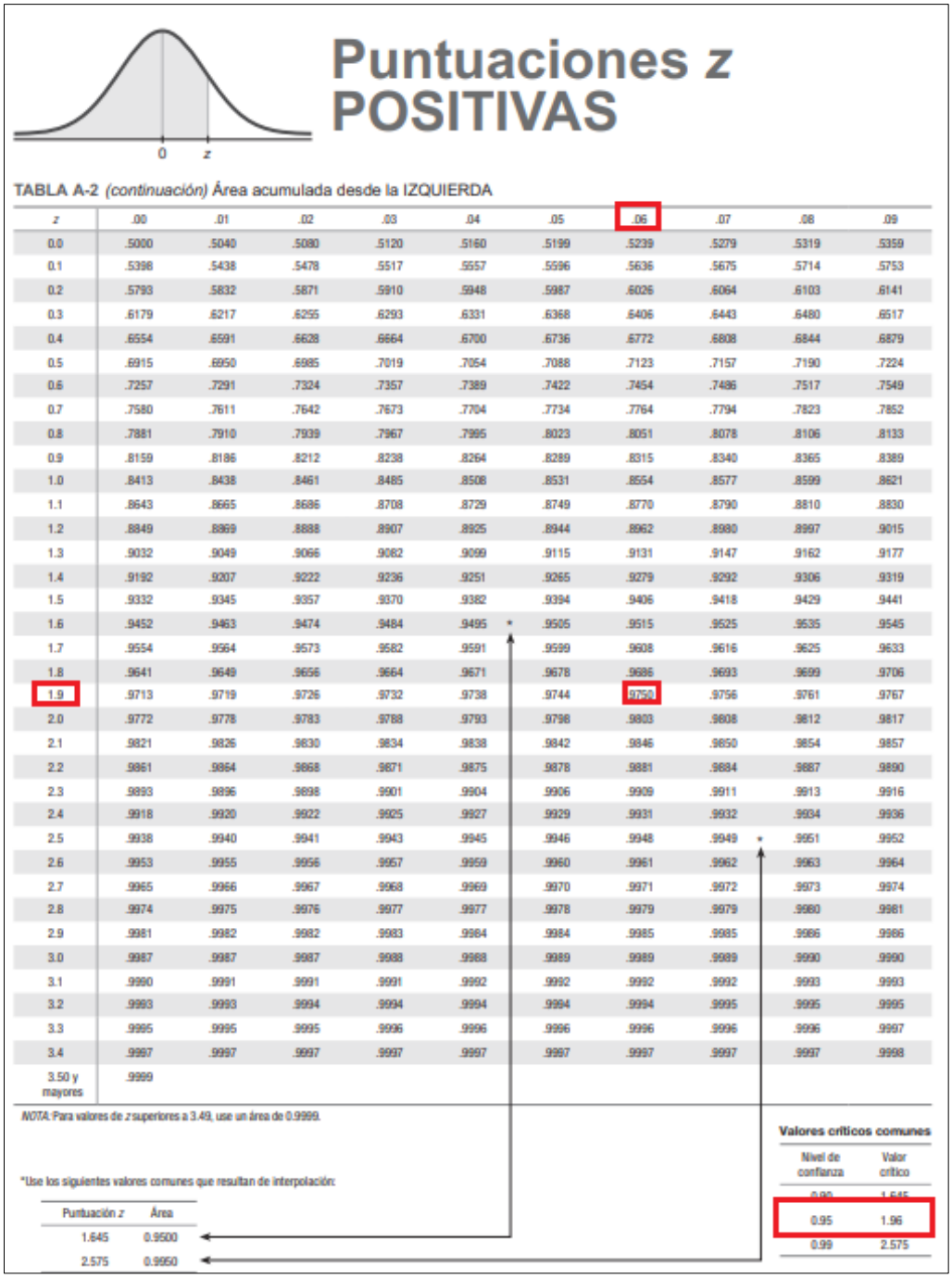
Familia	Antibiótico	LMR Bioeasy (µg/kg)
Sulfonamidas	Sulfadoxina	80-100
	Sulfametazina	
	Sulfapiridina	10-30
	Sulfatiazol	2-5
	Sulfamerazina	4-8
	Sulfametoxipiridazina	20-40
	Sulfaquinoxalina	14-28
	Sulfafenazol	20-40
	Sulfametoxazol	3-6
	Sulfametizol	2-5
	Sulfacloropiridazina	8-16
	Sulfamonometoxina	2-4
	Sulfapirazol	80-100
	Sulfadimetoxipirimidina	1,5-4
	Sulfamoxol	30-50
	Sulfisoxazol	80-100

Nota. Extraído del Manual proveniente del Kit Bioeasy 3 en 1.

Anexo 4. Tabla de Distribución Estándar para el Índice de Wilson.

Figura A.4

Distribución normal estándar acumulada en el Intervalo de Confianza utilizado



Puntuaciones z POSITIVAS

0 z

TABLA A-2 *(continuación)* Área acumulada desde la IZQUIERDA

z	.00	.01	.02	.03	.04	.05	.06	.07	.08	.09
0.0	.5000	.5040	.5080	.5120	.5160	.5199	.5239	.5279	.5319	.5359
0.1	.5398	.5438	.5478	.5517	.5557	.5596	.5636	.5675	.5714	.5753
0.2	.5793	.5832	.5871	.5910	.5948	.5987	.6026	.6064	.6103	.6141
0.3	.6179	.6217	.6255	.6293	.6331	.6368	.6406	.6443	.6480	.6517
0.4	.6554	.6591	.6628	.6664	.6700	.6736	.6772	.6808	.6844	.6879
0.5	.6915	.6950	.6985	.7019	.7054	.7088	.7123	.7157	.7190	.7224
0.6	.7257	.7291	.7324	.7357	.7389	.7422	.7454	.7486	.7517	.7549
0.7	.7580	.7611	.7642	.7673	.7704	.7734	.7764	.7794	.7823	.7852
0.8	.7881	.7910	.7939	.7967	.7995	.8023	.8051	.8078	.8106	.8133
0.9	.8159	.8186	.8212	.8238	.8264	.8289	.8315	.8340	.8365	.8389
1.0	.8413	.8438	.8461	.8485	.8508	.8531	.8554	.8577	.8599	.8621
1.1	.8643	.8665	.8686	.8708	.8729	.8749	.8770	.8790	.8810	.8830
1.2	.8849	.8869	.8888	.8907	.8925	.8944	.8962	.8980	.8997	.9015
1.3	.9032	.9049	.9066	.9082	.9099	.9115	.9131	.9147	.9162	.9177
1.4	.9192	.9207	.9222	.9236	.9251	.9265	.9279	.9292	.9306	.9319
1.5	.9332	.9345	.9357	.9370	.9382	.9394	.9406	.9418	.9429	.9441
1.6	.9452	.9463	.9474	.9484	.9495 *	.9505	.9515	.9525	.9535	.9545
1.7	.9554	.9564	.9573	.9582	.9591	.9599	.9608	.9616	.9625	.9633
1.8	.9641	.9649	.9656	.9664	.9671	.9678	.9686	.9693	.9699	.9706
1.9	.9713	.9719	.9726	.9732	.9738	.9744	.9750	.9756	.9761	.9767
2.0	.9772	.9778	.9783	.9788	.9793	.9798	.9803	.9808	.9812	.9817
2.1	.9821	.9826	.9830	.9834	.9838	.9842	.9846	.9850	.9854	.9857
2.2	.9861	.9864	.9868	.9871	.9875	.9878	.9881	.9884	.9887	.9890
2.3	.9893	.9896	.9898	.9901	.9904	.9906	.9909	.9911	.9913	.9916
2.4	.9918	.9920	.9922	.9925	.9927	.9929	.9931	.9932	.9934	.9936
2.5	.9938	.9940	.9941	.9943	.9945	.9946	.9948	.9949 *	.9951	.9952
2.6	.9953	.9955	.9956	.9957	.9959	.9960	.9961	.9962	.9963	.9964
2.7	.9965	.9966	.9967	.9968	.9969	.9970	.9971	.9972	.9973	.9974
2.8	.9974	.9975	.9976	.9977	.9977	.9978	.9979	.9979	.9980	.9981
2.9	.9981	.9982	.9982	.9983	.9984	.9984	.9985	.9985	.9986	.9986
3.0	.9987	.9987	.9987	.9988	.9988	.9989	.9989	.9989	.9990	.9990
3.1	.9990	.9991	.9991	.9991	.9992	.9992	.9992	.9992	.9993	.9993
3.2	.9993	.9993	.9994	.9994	.9994	.9994	.9994	.9995	.9995	.9995
3.3	.9995	.9995	.9995	.9996	.9996	.9996	.9996	.9996	.9996	.9997
3.4	.9997	.9997	.9997	.9997	.9997	.9997	.9997	.9997	.9997	.9998
3.50 y mayores	.9999									

NOTA: Para valores de *z* superiores a 3.49, use un área de 0.9999.

*Use los siguientes valores comunes que resultan de interpolación:

Puntuación z	Área
1.645	0.9500
2.575	0.9950

Valores críticos comunes

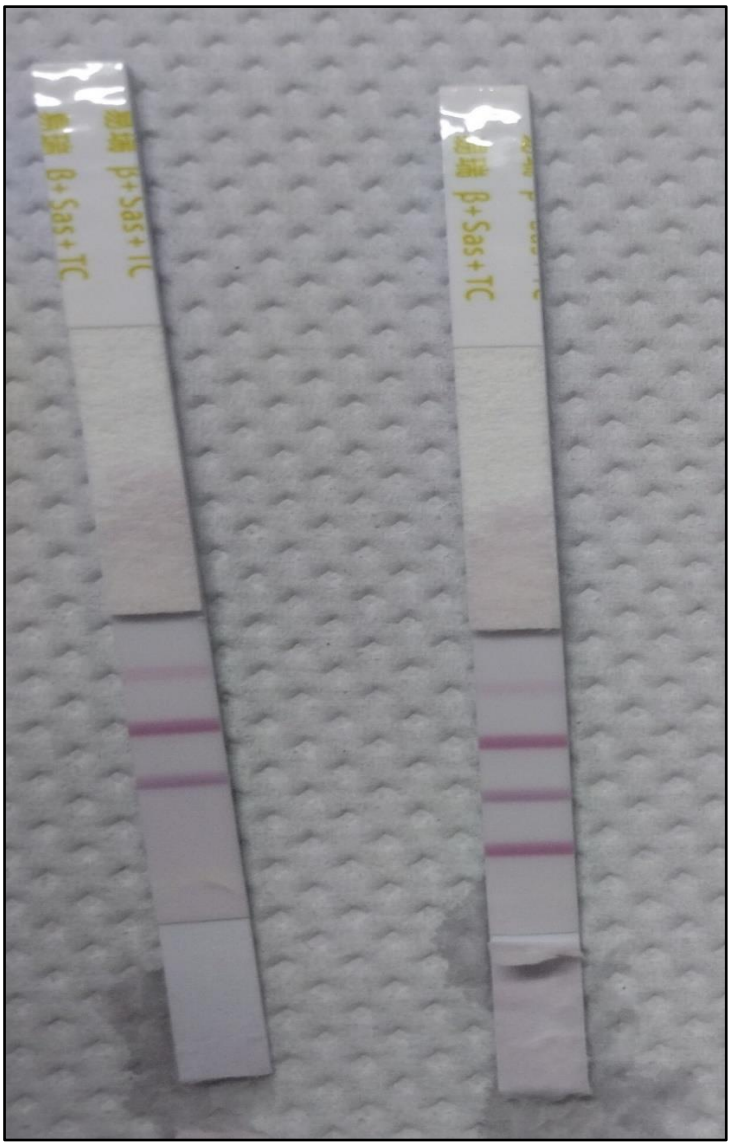
Nivel de confianza	Valor crítico
0.95	1.96
0.99	2.575

Nota. El índice de Wilson utiliza la Tabla Normal estándar, y en el presente estudio al usar un Intervalo de Confianza al 95% obtenemos el valor crítico de 1,96. Extraído de Triola, 2018.

Anexo 5. Registro fotográfico de los resultados analíticos en muestras lácteas.

Figura A.5.1

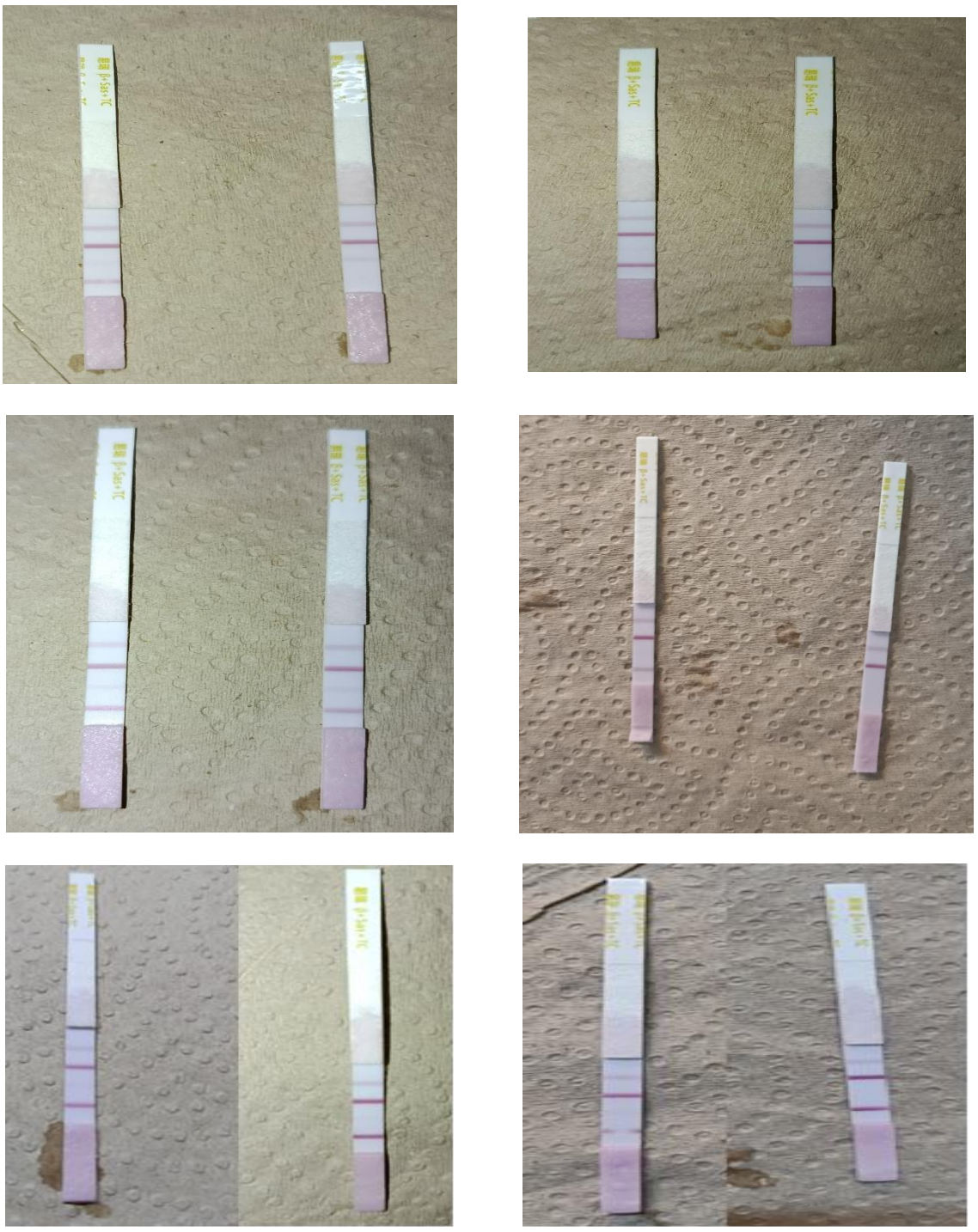
Muestras procesadas por duplicado con resultados discrepantes (Criterio de rechazo)



Nota. Registro de muestra analizada por duplicado que arrojó lecturas contradictorias. Aplicando el criterio estricto la prueba se tomó como negativa, según indicaciones del Manual de Usuario del Kit Bioeasy.

Figura A.5.2

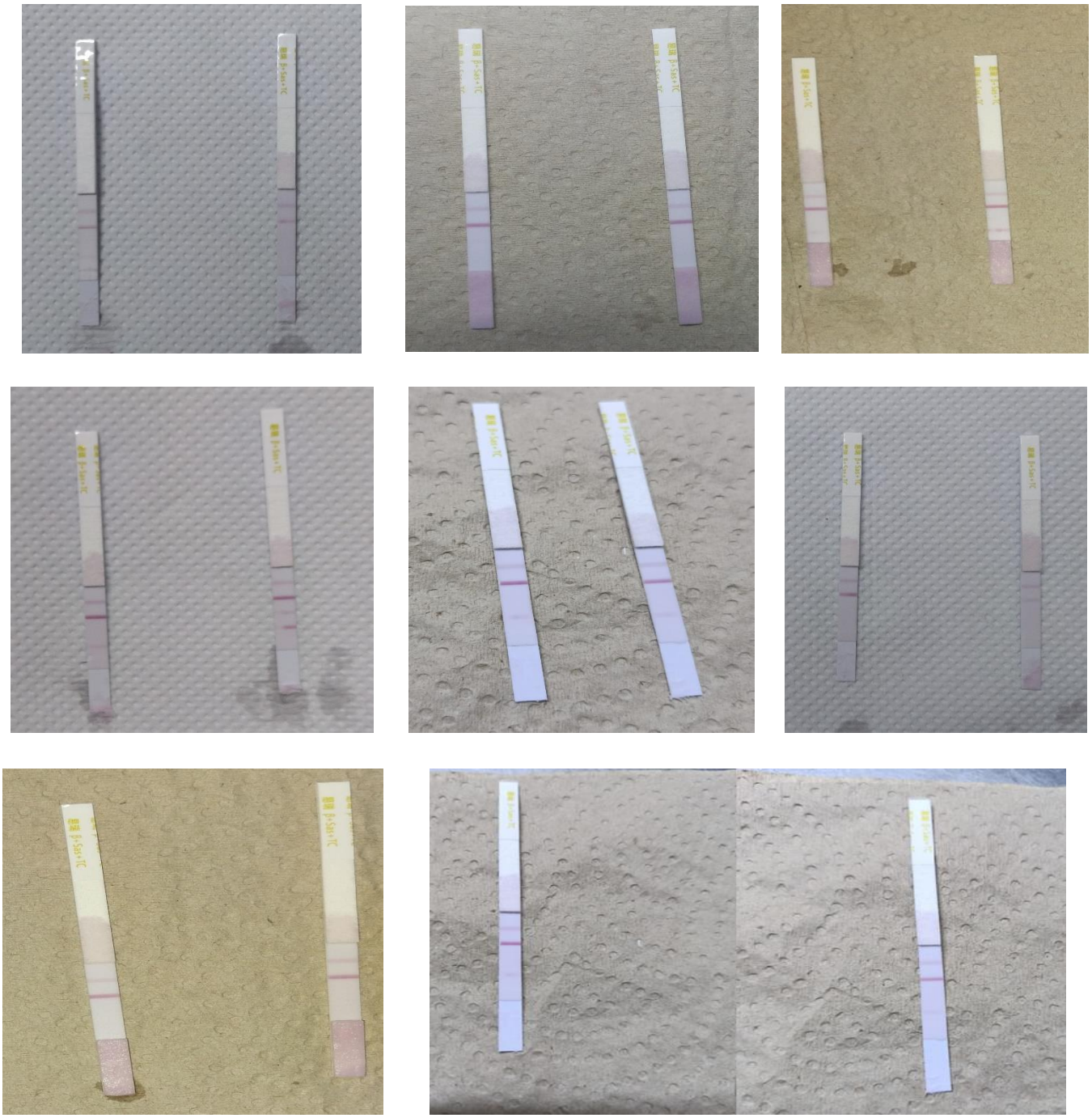
Registro fotográfico de muestras con resultados positivos para Sulfonamidas.



Nota. Evidencia visual de las muestras que arrojaron un resultado positivo para el grupo de las Sulfonamidas durante el ensayo cualitativo.

Figura A.5.3

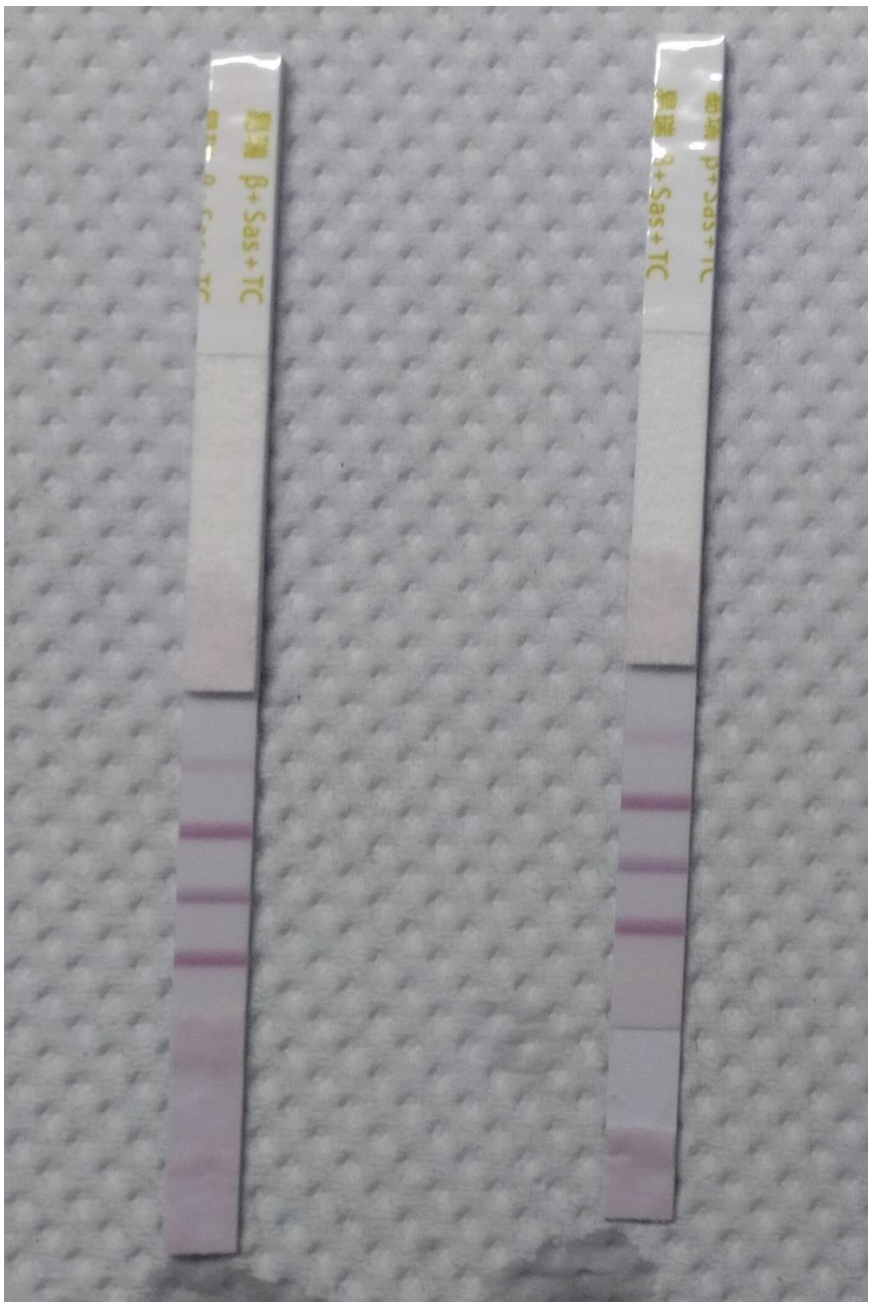
Registro fotográfico de muestras con resultados positivos para Sulfonamidas y ß-lactámicos.



Nota. Evidencia visual de las muestras que arrojaron resultados positivos para los grupos de Sulfonamidas y ß-lactámicos durante el ensayo cualitativo

Figura A.5.4

Muestra con resultado negativo.

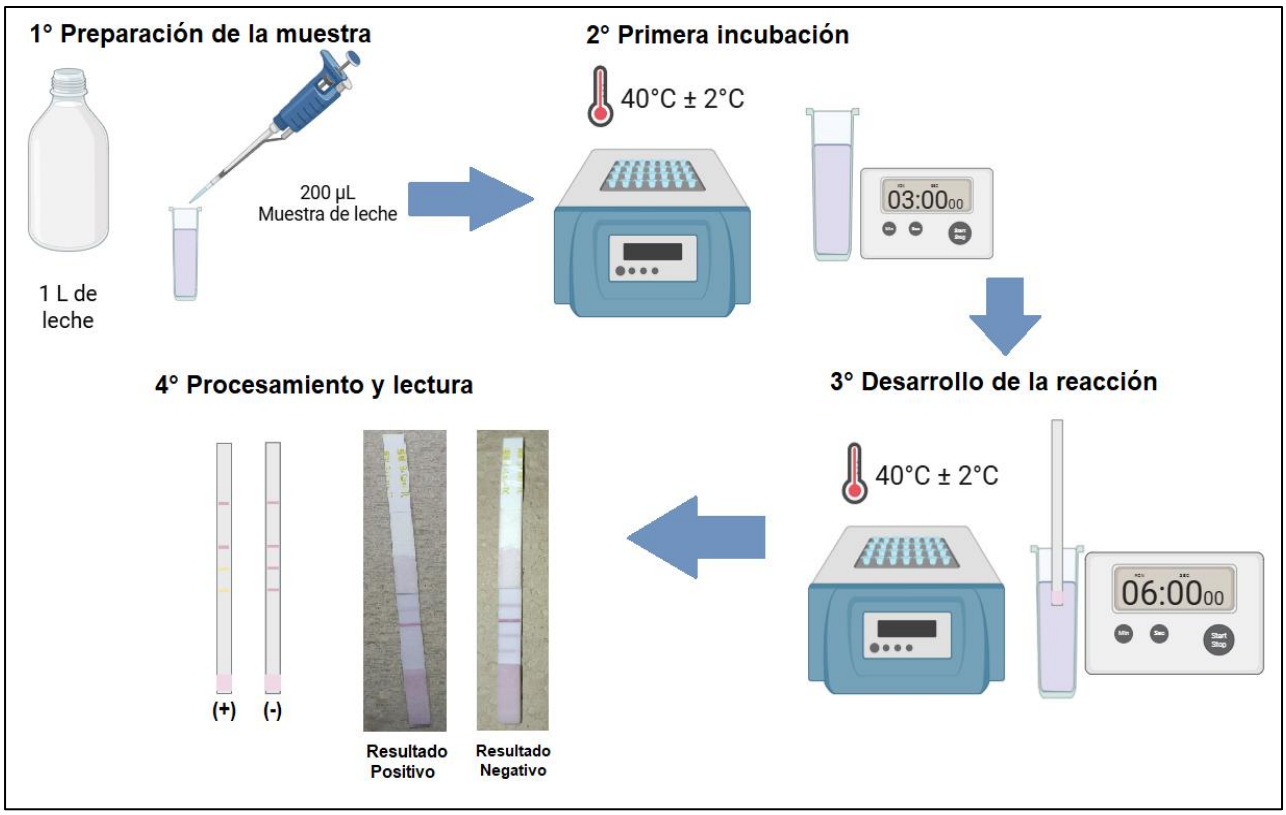


Nota. Tira reactiva con resultados negativos y presente la línea Control.

Anexo 6. Procedimiento de uso del Kit Bioeasy 3 en 1

Figura A.6.1

Protocolo para procesar muestra de leche con el kit Bioeasy 3 en 1.



Nota. Elaboración propia.

Anexo 7. Clasificación, espectro de acción y principales aplicaciones clínicas de los antimicrobianos en el ganado lechero.

Tabla A.7

Espectro de acción y aplicaciones principales de las familias de antibióticos en estudio.

Familia de Antibióticos	Espectro de acción	Principales aplicaciones
β-lactámicos	Actúan principalmente contra bacterias grampositivas, algunas gramnegativas y espiroquetas. Inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana.	Tratamiento de elección para la mastitis bovina (vía intramamaria o sistémica). Se utilizan también en casos de neumonía, podofilitis (pododermatitis) y pasteurelosis neumónica en terneros
Tetraciclinas	Poseen un amplio espectro que incluye bacterias grampositivas, gramnegativas, aerobias, anaerobias, micoplasmas, rickettsias, clamidias y espiroquetas.	Indicadas para enfermedades respiratorias complejas, anaplasmosis aguda, queratoconjuntivitis infecciosa (*Moraxella bovis*), retención de membranas fetales y podofilitis
Sulfonamidas	De amplio espectro; eficaces contra bacterias grampositivas, gramnegativas y protozoarios intestinales como coccidias y *Toxoplasma*.	Comúnmente empleadas en el tratamiento de enteritis (diarreas) en terneros, infecciones respiratorias, infecciones de tejidos blandos y del tracto urinario, además de podofilitis y mastitis

Nota. Extraído y adaptado de Sumano et al.,2015.