

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**



Universidad de El Salvador

Hacia la libertad por la cultura

**DETERMINACIÓN DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS β -LACTÁMICOS Y TETRACICLINAS
EN CARNE E HÍGADO DE BOVINOS FAENADOS EN EL RASTRO MUNICIPAL DE
SANTA ANA, EL SALVADOR.**

POR:

GARZA POLANCO, LUISA AMANDA.

HIDALGO MALDONADO, JOSÉ HUMBERTO

CIUDAD UNIVERSITARIA, MAYO DE 2015.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA



Universidad de El Salvador

Hacia la libertad por la cultura

**DETERMINACIÓN DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS β -LACTÁMICOS Y
TETRACICLINAS EN CARNE E HÍGADO DE BOVINOS FAENADOS EN EL RASTRO
MUNICIPAL DE SANTA ANA, EL SALVADOR.**

POR:

GARZA POLANCO, LUISA AMANDA.

HIDALGO MALDONADO, JOSÉ HUMBERTO

REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE:

LICENCIADO (A) EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CIUDAD UNIVERSITARIA, MAYO 2015.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR
Ing. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL
Dra. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO
Ing. Agr. Msc. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA

SECRETARIO
Ing. Agr. Msc. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFA DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA

F. _____
MVZ. MARÍA JOSÉ VARGAS ARTIGA

DOCENTES DIRECTORES

F. _____
MVZ. ROSY FRANCIS ALVARENGA

F. _____
M.Sc. AMY ELIETH MORÁN RODRIGUEZ

F. _____
MVZ. OSCAR LUIS MELÉNDEZ CALDERÓN

COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACION

F. _____
MVZ. OSCAR LUIS MELÉNDEZ CALDERÓN

RESUMEN

Esta investigación se desarrolló en rastro municipal de Santa Ana, las muestras fueron tomadas en el Mercado municipal Colón y luego analizadas en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador. Fue realizada de julio de 2014 a abril de 2015.

La investigación consistió en la determinación de residuos antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas presentes en muestras de carne e hígado bovinos.

Las muestras fueron tomadas de bovinos de los que no se conoció raza, sexo o edad. Los animales muestreados fueron faenados en el rastro Municipal de Santa Ana, donde se realizó una encuesta de trazabilidad a las canales para determinar el lugar al que eran distribuidas. Las muestras fueron tomadas en el mercado Municipal Colón de Santa Ana, donde se obtuvo $\frac{1}{2}$ libra de carne (posta pacha) ó $\frac{1}{2}$ libra de hígado de cada animal para realizar el análisis microbiológico. Se analizó un total de 48 muestras las cuales fueron obtenidas en tres muestreos, tomándose un total de 16 muestras (8 muestras de carne y 8 de hígado) en cada uno de ellos. Las muestras fueron identificadas y transportadas en hielera hacia el laboratorio para ser procesadas. En las muestras de carne e hígado se evaluó la presencia o ausencia de residuos antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas.

El método utilizado para la determinación de antibióticos fue el método microbiológico de cilindro placa, el cual consiste en la siembra de las muestras de carne e hígado en los medios de cultivo Antibiótico #4 específico para la determinación de halos de inhibición en el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* y medio de cultivo Antibiótico # 1 específico para *Micrococcus luteus*.

Los resultados que se obtuvieron al analizar las muestras fueron transformados, ya que los halos de inhibición fueron medidos en milímetros, fue necesario transformar los datos a $\mu\text{g/mL}$ por medio de una curva de regresión, cuya ecuación lineal fue utilizada para determinar el valor de "x", que en este caso se refería a la cantidad de microgramos por cada mL que se encontraban en las muestras. Los datos obtenidos fueron analizados por el método descriptivo multivariado de componentes principales con un nivel de significancia de 0.5%; fueron comparados con los límites máximos de residuos permitidos que se establecen en el Codex alimentarius. Al final del análisis de los resultados se determinó que la muestra número 5 de carne fue positiva a tetraciclinas con $19.32 \mu\text{g/kg}$, mientras que se encontró 13

muestras positivas a residuos antibióticos β -lactámicos (un total de 10 en carne y 3 en hígado) siendo la muestra número 15 de carne la de mayor concentración de antibiótico con 8.82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y la de menor concentración la muestra número 10 de carne con 0.87 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

De las muestras positivas, ninguna superó los límites máximos permitidos por la norma que son de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para β -lactámicos en carne e hígado y 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para carne y 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para hígado en el caso de tetraciclinas.

Se concluye que de las muestras de carne e hígado analizadas para determinación de residuos de antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas, solamente el 29.16% de las muestras fueron positivas a antibióticos, pero ninguna sobrepasó los límites establecidos por el Codex alimentarius.

Palabras claves: antibiótico, carne, hígado, residuo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de El Salvador por darnos la oportunidad de ser parte de su historia, y formarnos como profesionales.

A los maestros Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, por habernos formado y transmitido sus conocimientos, especialmente a los que estuvieron más involucrados durante nuestro proceso de formación académica.

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), por brindarnos las instalaciones y por su colaboración en el procesamiento de muestras y análisis de laboratorio.

A nuestros docentes directores: MVZ Rosy Francis Alvarenga, M.Sc. Amy Elieth Morán Rodríguez y MVZ Oscar Luis Meléndez Calderón por compartir sus conocimientos y experiencia con nosotros durante todo el proceso de realización de éste proyecto de investigación.

Al Ing. Mario Bermúdez por su colaboración en el análisis estadístico de los resultados.

A Lilian Urrutia por sus atenciones y buen trato durante todo el proceso.

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, amarme de manera incondicional y poner en mi corazón el sueño de ser parte de las personas que cuidan su hermosa creación. “Pero el Señor le dijo: no te fijes en su apariencia ni en su elevada estatura pues yo lo he rechazado. No se trata de lo que el hombre ve; pues el hombre se fija en las apariencias, pero yo me fijo en el corazón” 1 Samuel 16:7

A la Santísima Virgen María por cubrirme con su amor de madre y por su intercesión en todo momento ante su hijo.

A mis padres, Margarita Polanco por ser el reflejo perfecto del amor de Dios en la tierra y enseñarme sobre la gentileza y el amor; y Oscar Garza por enseñarme cada día que el esfuerzo es la manera de llegar a todos lados y hacerme saber que soy capaz de todo cuanto desee.

A mi hermana Arlen Garza por ser ese gran ejemplo de esfuerzo y lucha en mi vida, por enseñarme que cada cosa es mejor con una sonrisa.

A mis amigos Iliana Aguilar, Enrique Colindres, Rossy Alvarenga, Alejandra Velásquez, Lourdes Rico, Humberto Hidalgo y Samuel Valdizón, por estar conmigo en cada momento, cada uno siendo quien es, apoyándome de diferente manera.

A mi demás familia, especialmente a Lorena Linares y Magdalena Linares por su amor y apoyo en cada momento de mi vida.

Finalmente esta tesis está dedicada a dos mujeres que me mostraron que el amor es lo más importante, dos ángeles que vinieron a la tierra a cambiar la vida de muchas personas incluida la mía. Mis amadas abuela y tía, **Victoria y Gloria Chacón.**

Luisa Garza

A Dios, por darme tantas bendiciones en la vida y por permitirme culminar mi formación académica.

A la Virgen María, por ser madre de Jesús y madre nuestra e intercesora de nuestras súplicas.

A mi familia, una de las bendiciones más grandes recibidas por Dios, por su apoyo incondicional, por creer en mi para poder obtener mi formación académica.

A mi hermana, amiga y compañera de tesis que con su inmenso apoyo pude culminar mi formación profesional.

A mis amigos que de diversas formas han estado pendientes y brindándome su apoyo en los momentos de más necesidad.

Humberto Hidalgo

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
INDICE GENERAL.....	ix
ÍNDICE DE CUADROS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
INDICE DE ANEXOS	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Antecedentes	3
2.1.1 Mundiales.....	3
2.1.2 Regionales.	3
2.2 Ganadería en El Salvador.	4
2.3 Producción animal.	5
2.3.1 Alimentación.....	5
2.4 Carne.	6
2.4.1 Factores biológicos que influyen en la calidad de la carne.	6
2.5 Importancia de la producción de carne bovina.....	7
2.5.1 Importancia en la salud humana.	7
2.5.2 Consumo de carne per cápita.....	7
2.5.3 Producción a nivel centroamericano.	8
2.5.4 Producción nacional.	8
2.6 Inocuidad alimentaria humana.	8
2.6.1 Calidad de la carne.....	9
2.7 Antimicrobianos.....	10
2.7.1 Utilización de antimicrobianos en medicina veterinaria.....	10
2.7.2 Antibióticos β -lactámicos.....	11
2.7.3 Tetraciclinas.....	13
2.8 Codex alimentarius.	14
2.8.1 Límite máximo de residuos (LMR).....	15
2.8.2 Requisitos relativos a las materias primas.	16

2.8.3 Residuos como problema de salud pública	16
3. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1 Ubicación.	19
3.2 Metodología de campo	19
3.2.2 Procedimiento de la toma de muestra	19
3.3 Metodología de laboratorio	20
3.3.1 Medios de cultivo	20
3.3.2 Preparación de <i>Micrococcus luteus</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	21
3.3.3 Preparación de placas	21
3.3.4 Preparación de la curva estándar.....	22
3.3.5 Controles.....	22
3.3.6 Preparación de la muestra.	23
3.3.7 Preparación de placas: Muestra	23
3.3.8 Incubación y medición de halos de inhibición.....	23
3.3.9 Cálculo de potencia	23
3.4 Metodología estadística.....	24
4. RESULTADOS Y DISCUSION.	25
4.1 Determinación de tetraciclinas.	25
4.2 Determinación de antibióticos β -lactámicos.....	27
4.3 Comparación de muestras positivas.	29
5. CONCLUSIONES	33
6. RECOMENDACIONES	34
7. BIBLIOGRAFIA	35
8. ANEXOS	39

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO A- 1 LÍMITES MÁXIMOS DE RESIDUOS B-LACTAMICOS Y TETRACICLINAS PERMITIDOS EN LOS DIFERENTES TEJIDOS ANIMALES.	39
CUADRO A- 2 TIEMPO DE RETIRO DE ANTIBIÓTICOS B-LACTÁMICOS, PARA ENVÍO A RASTRO DE GANADO BOVINO.....	39
CUADRO A- 3 TIEMPO DE RETIRO DE LAS TETRACICLINAS, PARA ENVÍO A RASTRO DE GANADO VACUNO.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA A- 1 CURVA DE REGRESIÓN : 2 PUNTOS.....	46
FIGURA A- 2 CURVA DE REGRESIÓN: 5 PUNTOS.....	46
FIGURA A- 3 PREPARACIÓN DE INÓCULO.....	48
FIGURA A- 4 DILUCIONES CURVA ESTÁNDAR	48
FIGURA A- 5 PREPARACIÓN DE PLACAS PETRI: CURVA ESTÁNDAR	49
FIGURA A- 6 PREPARACIÓN DE PLACAS PETRI: MUESTRA.....	49
FIGURA A- 7 UBICACIÓN RASTRO MUNICIPAL DE SANTA ANA.....	50
FIGURA A- 8 CURVA ESTÁNDAR TETRACICLINA	50
FIGURA A- 9 MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN	51
FIGURA A- 10 RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	51

INDICE DE ANEXOS

ANEXO A- 1 TABLAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	42
ANEXO A- 2 HOJA DE CÁLCULO: CORRECCIÓN DE ESTÁNDARES	44
ANEXO A- 3 HOJA DE CÁLCULO: PUNTOS DE CURVA DE REGRESIÓN.	45
ANEXO A- 4 TRANSFORMACIÓN DE DATOS	47

1. INTRODUCCIÓN

La ganadería en El Salvador es uno de los principales rubros del sector agropecuario, ya que además del aporte económico de su producción, también genera aproximadamente 150,000 empleos permanentes y contribuye a disminuir la inseguridad alimentaria. (IICA, 2011).

Actualmente el reto más importante a cubrir en lo que respecta a la producción animal, es la alimentación de los seres humanos, existiendo un incremento de la demanda en cantidad y calidad por parte de los consumidores, situación que puede resolverse a través de los programas de salud pública e inocuidad, mejoramiento genético, adelantos tecnológicos y farmacológicos, y que han conseguido mayor eficiencia en la producción (Sumano y Ocampo, 2000).

El difundido uso de los antimicrobianos y la aplicación de estos por personal no idóneo, realizando usos indiscriminados en la agricultura y la ganadería, plantean graves preocupaciones, pues algunas de las bacterias resistentes en los animales se transmiten a las personas, principalmente por los alimentos de origen animal o por el contacto directo con animales de granja. (Flores, *et al* 1999).

La presencia de residuos de antimicrobianos en alimentos implica un riesgo a la salud del consumidor, pues pueden desencadenar reacciones de hipersensibilidad en personas alérgicas, provocar desórdenes en la flora intestinal, resistencia a los antibióticos por recibir sub dosificaciones, o sobre dosificaciones del mismo (Flores, *et al* 1999).

La contaminación de alimentos de origen animal, con diferentes antimicrobianos, utilizados de manera indiscriminada ha ocasionado secuelas frecuentes posteriores al tratamiento o prevención de enfermedades que afectan a los animales de producción (Bravo, *et al* 2002). Tal es el caso del uso de antimicrobianos que se emplean con fines terapéuticos o profilácticos tanto en medicina humana como en veterinaria referida a animales, lo cual ha contribuido a mantener la salud pública bajo condiciones de manipulación y tiempos de retiro establecidos, de acuerdo al tipo de producto al que se refiera (Arboix, *et al* 2002).

Residuo medicamentoso o químico es definido "como aquella sustancia que como consecuencia del empleo de medicamentos y sustancias químicas en el control y tratamiento de las enfermedades animales o de su inclusión, como aditivos, en el pienso para promover el crecimiento y mejorar la conversión, pueden depositarse o almacenarse en células, tejidos u órganos animales, ya sea como tales o sus metabolitos.

Los antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas son comúnmente utilizados por su precio, espectro de acción, así como por ser medicamentos de fácil acceso a los ganaderos. A pesar que las posologías de dichos fármacos recomiendan determinados períodos de retiro tras la administración, estos no se respetan por diferentes causas como la falta de conocimiento respecto a lo que el incumplimiento de dicho tiempo puede causar a la salud humana. (Arboix, *et al* 2002)

Frente a esta situación, actualmente es más frecuente la realización de estudios microbiológicos cuantitativos y cualitativos que permitan determinar la presencia de residuos antibióticos en tejido muscular de animales para consumo humano, como por ejemplo el método cilindro placa para identificación de antibióticos, establecido por el Manual de Análisis Bacteriológicos (BAM por su siglas en inglés), método que se ha desarrollado con el fin de detectar residuos de sustancias antibacteriales en productos de origen animal, el cual permite detectar un amplio rango de grupos antimicrobianos en un tiempo corto (24 horas) (Maturin, 2001)

Por lo anteriormente expuesto, este estudio consistió en la determinación de residuos antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas en carne e hígado de bovinos faenados en el rastro municipal de Santa Ana, El Salvador. Con este estudio se pretende contribuir en el papel de la medicina veterinaria de velar por la salud pública de los consumidores de productos de origen animal, a fin de determinar si en la carne e hígado de animales faenados en el rastro municipal de Santa Ana, existe presencia de residuos antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas mediante un método cilindro placa para identificación de antibióticos.

De las muestras encontradas como positivas, se cuantificaron los residuos de los antibióticos en estudio y se identificó la frecuencia de uso de estos mismos. Con los hallazgos obtenidos se brindarán recomendaciones que faciliten a los productores a hacer un uso racional de dichos antibióticos y su tiempo de retiro, así como se pretende hacer un llamado a generar conciencia en los productores y en las autoridades pertinentes para implementar medidas que generen un cambio en la educación sobre el uso de dichos antibióticos y las repercusiones de sus residuos en la salud de los consumidores.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Antecedentes

La presencia de antimicrobianos en productos de origen animal se ha convertido en un problema de salud pública en las últimas décadas, ya que, se sospecha su contribución a diferentes procesos patológicos en los seres humanos. Dado que no existen estudios previos sobre la presencia de residuos de antibióticos en carne en nuestro país, se da a conocer algunas investigaciones sobre residuos de antimicrobianos presentes en productos de origen animal y algunas sobre efectos que estos pueden causar en el ser humano.

2.1.1 Mundiales.

- En 2001 Barcelona España Imppicciatore, publicó un meta análisis sobre estudios prospectivos en acciones adversas a medicamentos en pacientes pediátricos hospitalarios y ambulatorio. La incidencia de reacciones adversas a fármacos de los niños hospitalizados fue de 9.53% de las que el 12.29% fueron graves. Para los pacientes ambulatorios, la incidencia fue del 1.46% (Giner Muñoz, 2005).
- En 1999 se realizó un estudio en un distrito agrícola del Vietnam del norte subtropical. Los investigadores seleccionaron de modo aleatorio a 200 niños, de uno a cinco años de edad, de 166 familias. En cada niño se tomaron muestras nasofaríngeas y de la garganta, y se entrevistó a las personas cuidadoras para obtener información sobre el uso de medicamentos. Se probó la sensibilidad de 163 muestras aisladas de 145 niños. La tasa de portadores de *S. pneumoniae* fue del 50%, de *H. influenzae* del 39% y de *M. catarrhalis* del 17%. En el 74% de los 145 niños se hallaron microorganismos patógenos resistentes. Se observó resistencia a uno o más antibióticos en el 68% (50/74) de muestras aisladas de *H. influenzae* , el 90% (56/62) de muestras aisladas de *S. pneumoniae* y el 74% (20/27) de muestras aisladas de *M. catarrhalis* (Larsson, 2005).

2.1.2 Regionales.

- En México 2005, en el laboratorio de residuos tóxicos I, del departamento de salud pública de, ICUBA, se aplicó el método de electroforesis en gel con alto voltaje para la identificación de penicilina y tetraciclina en muestras de músculos y riñón de bovino y cerdo del rastro municipal de sahuayo Michoacán. Se procesaron un total de 70 muestras de tejido muscular y riñón de bovinos, encontrándose un total de 39 muestras positivas en el comportamiento electroforético, mismas que pertenecen al 56% (Angulo, *et al* 2005).

- Otra investigación realizada en México en el 2008 donde se buscó la presencia de residuos de antimicrobianos en tejidos y tetraciclinas en huesos de cerdos en el Matadero Municipal de la zona Metropolitana de Guadalajara, el estudio se realizó en tres etapas por dos métodos diferentes. La primera etapa tuvo como propósito investigar la frecuencia de cerdos positivos a tetraciclinas y arrojó que de 277 canales examinados 47% fueron positivos. En la segunda se realizó la detección visual de fluorescencia en muestras de fémur, húmero y costilla de cerdos. De las 172 muestras de hueso analizadas 81% fueron positivas. En la tercera se investigó la presencia de residuos de antimicrobianos en tejidos por el método microbiológico de las tres placas. De los 62 cerdos estudiados, 50% fueron positivos, 27.4% negativos y 22.6% dudoso, resultaron a su vez positivas en riñón 41.9%, en músculo 54.8%, y en hígado 66.1%. Lo que demostró que había una elevada presencia de residuos (Medina, *et al* 2008).
- En Tegucigalpa, Honduras, en el año 2002 se buscó la presencia de oxitetraciclina en 126 canales de vacas en la Procesadora Municipal de Carnes (PROMDECA) que maneja el 90% de los sacrificios. Se estudió la presencia de residuos de oxitetraciclinas (OTC) en hígado de res sacrificado y se compararon los resultados entre las épocas seca y lluviosa. Sólo se detectaron seis muestras positivas de las 120 analizadas, dos en época seca y cuatro en época lluviosa, pero en una concentración menor al Límite Máximo de Residuos permitido y sin diferencias entre la época seca y lluviosa ($P > 0.10$). Se concluye que no existió presencia de OTC en la carne proveniente de PROMDECA (Valiente, *et al* 2002).
- La resistencia microbiana es posiblemente causada por variados factores, incluso el uso adecuado de antibióticos contribuye al aumento en la resistencia y la responsabilidad de esta situación es compartida entre las prácticas médicas, demanda de los pacientes, prácticas veterinarias, prácticas industriales, y otra que es una inevitable evolución de los microorganismos (Rocha de McGuire, 2012).

2.2 Ganadería en El Salvador.

La ganadería en El Salvador, ha sido a través del tiempo, una actividad muy importante en el aspecto económico y social, dando un salto muy importante en los últimos años por su incrementada demanda tanto de leche, como también de carne, pero por diversas razones este sector no ha mostrado el dinamismo para lograr un crecimiento sostenido, que dé la

oportunidad de tener autosuficiencia en productos lácteos y cárnicos, por el contrario se ha tenido que importar para abastecer el consumo interno (BMI, 2002).

El hato bovino nacional, ha aumentado en un 14% desde 1990. Además, presenta un cambio importante en su estructura con un crecimiento de la proporción de hembras. En el hato bovino nacional, más del 50% del total de hembras son vacas, que dan la capacidad reproductora del hato, el resto lo constituyen los reemplazos y las no aptas para la reproducción. Los machos de tres años y más están constituidos por sementales en servicio y en crecimiento y bueyes tanto en servicio como en amanso, gran parte de los cuales son para el sacrificio, los restantes conforman los sustitutos de los sementales y bueyes, así como los novillos, toretes y terneros criados para el mismo fin (MAG, 2003).

2.3 Producción animal.

La producción y el consumo de productos de origen animal, han experimentado un rápido crecimiento en todo el mundo y se prevé que continuarán aumentando. Mientras que los sistemas ganaderos tradicionales, contribuyen a los medios de vida del 70 % de la población rural pobre del mundo, son las nuevas empresas en gran escala con tecnología avanzada y que comercian en el mercado internacional, las que cada vez en mayor medida satisfacen la demanda de carne, leche y huevos de unos mercados en rápido crecimiento (Seré y Steinfeld, 1996).

Esta requiere actualmente, un tercio de las tierras de cultivo en todo el mundo, que se dedican a la producción de piensos, y compite por la tierra, el agua, la energía y la fuerza de trabajo; por otra parte, se ve amenazada por el cambio climático y por presiones socioeconómicas (SAGARPA, s.f)

2.3.1 Alimentación.

A través del manual de Buenas Prácticas Pecuarias, en el sistema de producción de ganado bovino, de producción de carne en confinamiento, se destaca, los tipos de alimentos necesarios, para una mejor producción de carne de buena calidad, así como también los tipos de aditivos que pueden contribuir para el mismo fin o poner en riesgo la calidad de la carne y por ende de los consumidores (SAGARPA, s.f)

Los aditivos, son un instrumento para mantener la salud, promover el crecimiento, e incrementar la eficiencia de utilización del alimento. Básicamente los aditivos nutricionales, son todos aquellos componentes, que mejoran el funcionamiento metabólico del animal,

como son los probióticos, ionóforos, enzimas y antibióticos. Los aditivos no nutricionales, son aquellos que imparten textura, sabor y color a un alimento con la finalidad de hacerlo más apetecible. Sin embargo, el uso inadecuado de aditivos, pone en riesgo la integridad de la carne (SAGARPA, s.f)

2.4 Carne.

Es la estructura estriada esquelética, acompañada o no de tejido conectivo, hueso y grasa, además de fibras nerviosas y vasos sanguíneos. (SAGARPA, 2012).

La carne, es el producto pecuario de mayor valor. Posee proteínas, aminoácidos, minerales, grasas, ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos. Desde el punto de vista nutricional, la importancia de la carne deriva de sus proteínas de alta calidad, que contienen todos los aminoácidos esenciales, así como de sus minerales y vitaminas de elevada biodisponibilidad. Mientras en el mundo desarrollado, el consumo de carne no ha registrado importantes variaciones, el consumo anual per cápita de carne en los países en desarrollo, se ha duplicado desde 1980. El crecimiento demográfico y el incremento de los ingresos, junto con los cambios en las preferencias alimentarias, han producido un aumento de la demanda de productos pecuarios. Según las proyecciones, la producción mundial de carne se habrá duplicado para el año 2050 y se prevé que la mayor parte del crecimiento, se concentrará en los países en desarrollo (FAO, 2014)

El creciente mercado de la carne, representa una importante oportunidad para los productores pecuarios y los elaboradores de carne de estos países. No obstante, el incremento de la producción ganadera, la elaboración y comercialización inocuas de carne y productos cárnicos conformes a las normas higiénicas, supone un serio desafío (FAO, 2014).

2.4.1 Factores biológicos que influyen en la calidad de la carne.

La conformación de la res, está influenciada por la edad, ya que a edades muy tempranas, el animal no tiene el desarrollo muscular deseado, ni la cantidad de grasa óptima de cobertura muscular e intramuscular (Depetris, 2000).

En relación al sexo, las causas de cambios en la calidad de la carne, se refieren a diferencias en las características metabólicas. La caída post-mortem del pH dentro del músculo, es mucho más lenta en machos enteros que en hembras, los novillos ocupan una posición intermedia (Depetris, 2000).

El uso de antimicrobianos, suministrados en ganado de ceba, constituye una de las preocupaciones de salud pública más grandes, pues éstos animales están destinados al consumo humano, y los antibióticos son utilizados en ellos para el control de diferentes enfermedades, como el absceso hepático, que pueden reducir la ganancia de peso y aumentar la eficiencia de la alimentación en un 10%. Además de controlar los abscesos hepáticos, los antibióticos también previenen el crecimiento de microorganismos nocivos en el animal. Esta reducción da lugar a una menor competencia, por los nutrientes entre estos microorganismos y el huésped (Irala, 2011).

2.5 Importancia de la producción de carne bovina.

2.5.1 Importancia en la salud humana.

La carne puede formar parte de una dieta equilibrada, aportando valiosos nutrientes beneficiosos para la salud. La carne y los productos cárnicos, contienen importantes niveles de proteínas, vitaminas, minerales y micronutrientes, esenciales para el crecimiento y el desarrollo. La elaboración de la carne supone una oportunidad para añadir valor, reducir los precios, fomentar la inocuidad alimentaria y ampliar la vida útil. El crecimiento demográfico constante y el aumento de los ingresos generan una mayor demanda de carne, pero al mismo tiempo dejan un espacio limitado para la expansión de la producción pecuaria. En consecuencia, hacer el máximo uso de los recursos alimentarios existentes, es cada vez más importante (FAO, 2014).

2.5.2 Consumo de carne per cápita.

En algunos países industrializados es alto, en los países en desarrollo, un consumo per cápita de carne inferior a 10 kg. Debe considerarse insuficiente y con frecuencia causa subnutrición y malnutrición. Asimismo, se estima que en el mundo más de 2 000 millones de personas sufren carencias de vitaminas y minerales fundamentales, en particular vitamina A, yodo, hierro y zinc. Dichas carencias se producen cuando las personas tienen un acceso limitado a alimentos ricos en micronutrientes como carne, pescado, frutas y hortalizas. (FAO, 2014).

En el año 2010, el valor agregado bruto de la producción bovina a precios constantes del año 2000 fue de \$ 306.4 millones, equivalentes al 18.2% del PIBA que ascendió a \$ 1,675.0 millones. Se estima que de ese valor, \$ 91.9 millones corresponden al valor agregado de la producción de carne bovina y productos cárnicos, los cuales equivalen al 5.5% del PIBA,

17.9% del PIB pecuario y al 0.58% del PIB. Dentro del subsector pecuario, la producción de carne bovina, ocupa el tercer lugar en importancia, después de la producción avícola, de leche y productos lácteos. Durante el período de 2006 a 2010, no se registraron exportaciones de carne bovina, por lo que la actividad no contribuyó a la generación de divisas (CEPAL, 2000)

2.5.3 Producción a nivel centroamericano.

Los principales productores de carne de bovino son, Costa Rica, Panamá, Guatemala, Honduras y Nicaragua. El Salvador produce menos del 10% de la carne y Belice prácticamente, no tiene producción ganadera. En el pasado, casi todos los países exportaron carne hacia los Estados Unidos de América, pero actualmente solo Costa Rica y Nicaragua tienen alguna participación importante (MAG, 2003).

2.5.4 Producción nacional.

El Ministerio de Agricultura y Ganadería Menciona, que en El Salvador la producción de carne proviene del ganado bovino de doble propósito, (animales de descarte), la porcicultura y la avicultura. La producción nacional de carne de bovino, muestra tendencia al alza. Aumentando en un 11.4% en el período 1990- 2002 y experimentó una drástica caída de las exportaciones, pues a partir de 1991 evidenció una reversión, de exportador paso a importador, especialmente de Nicaragua (MAG, 2003).

La producción de carne bovina, muestra tendencia al alza en la última década, así tenemos que en 1990 la producción fue de 26,833 toneladas métricas y en el 2002 se produjo 29,881 TM, la mayor producción se alcanzó en 1997 con 34,606 TM. La producción de carne del país, proviene de animales de descarte, de las lecherías especializadas y de animales de doble propósito, en el país prácticamente no existen explotaciones de ganado de carne (MAG, 2003).

2.6 Inocuidad alimentaria humana.

Tiempo de retiro de un fármaco, es el tiempo que se requiere, para que la actividad metabólica de los antimicrobianos en el organismo animal, no se vea reflejada en sus derivados afectando la salud pública. La tendencia a preferir carne, que no haya recibido antibióticos durante su proceso de producción, crece en Estados Unidos, donde en 2012, 72% de la gente dijo estar extremadamente o muy preocupada, por el amplio uso de

antibióticos en la alimentación de los animales. Aunque en 2013, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) pidió a las farmacéuticas y a los procesadores de carne, que eliminaran la práctica de suministrar antibióticos a los animales para acelerar su crecimiento, varios productores ya lo habían comenzado a hacer en respuesta a la demanda de los consumidores (The Wall Street Journal, 2014).

Para mejorar la calidad de la carne, hay cuestiones que tienen importancia como el uso de los antiparasitarios internos y externos, utilizando las dosis adecuadas y los tiempos de espera, para faena recomendados; la misma precaución para los tratamientos con antibióticos, antiinflamatorios, etc. Estados Unidos ha realizado auditorias, en calidad de carnes, que le han permitido develar una alta incidencia de lesiones por inyecciones, determinando la vinculación entre éstas y la calidad de los cortes de la carne (Depetris, 2000).

2.6.1 Calidad de la carne

La calidad se define como las características propias que tiene un producto y que le permiten al consumidor valorarlo, o bien, las propiedades del producto, que permiten apreciarlo como igual, mejor o peor con respecto a otro similar. Para establecer esta calidad se deben conocer algunos parámetros que la garanticen como:

Composición: Esta está íntimamente relacionada al Marmoleo. El marmoleo consiste en rayas o acúmulos de grasa intramuscular visibles en el corte de la carne. El marmoleo depende de la genética, edad y manejo de la alimentación. Esta grasa intramuscular tiene un efecto positivo en la jugosidad, suavidad y el sabor de la carne una vez cocinada (SAGARPA, 2012).

Factores nutricionales: la carne de res contiene los siguientes nutrientes:
Zinc: Refuerza el sistema inmunológico y ayuda a cicatrizar heridas mucho más rápido.
Fósforo: Necesario para tener huesos más fuertes.

Proteína: Ayuda a desarrollar la estructura muscular del cuerpo.

Vitaminas del complejo B (Riboflavina, Niacina, B6 y B12): Ayuda a producir energía en todas las células del cuerpo (SAGARPA, 2012).

Factores sensoriales: El color de la carne es uno de los factores que más afectan la decisión de compra. Depende de la especie animal, la genética (raza), edad, condiciones de faenado y de almacenamiento. La carne debe presentar un color normal (de rosa a rojo cerezo, no blanco ni obscuro), característico y uniforme a lo largo de todo el corte. Otra característica importante es el olor. Si bien definir el olor “normal” de la carne fresca puede ser complicado, las variaciones causadas por la descomposición son fácilmente identificables (SAGARPA, 2012).

2.7 Antimicrobianos.

Los antibióticos, son sustancias producidas por varias especies de microorganismos, ya sean bacterias, hongos o actinomicetos que suprimen el desarrollo de otros microorganismos y que incluso pueden llegar a destruirlos. Se ha ido comprobando que, muchas bacterias producen sustancias que a la vez actúan como agentes antibacterianos; sin embargo, la acción antibiótica, no solo se ha observado en bacterias. (Dávila, 2007).

El uso de los antibióticos, presenta un doble papel. En primer lugar, éstos pueden utilizarse con fines terapéuticos, siendo los piensos medicamentosos, una de las vías más usadas para administrar el fármaco. En segundo lugar, pueden emplearse como promotores de crecimiento animal, favoreciendo el control de la flora bacteriana, lo que conlleva un mayor aprovechamiento de los nutrientes y un aumento considerable de peso. Los antibióticos son fármacos, no son nutrientes, y por ello su efecto sobre la nutrición de los animales, se considera de carácter secundario. (Maynard, *et al* 1962).

2.7.1 Utilización de antimicrobianos en medicina veterinaria.

Profilaxis: Sólo para aquellos casos en que, esté demostrado su importancia para prevenir una infección; por ejemplo, en ciclos iniciales de crecimiento de animales, especialmente sensibles a agentes infecciosos muy particulares. En estos casos, no deberían emplearse antimicrobianos de adquisición reciente, ya que en general son menos eficaces como preventivos de infección que los ya existentes y podrían favorecer además, la aparición de resistencias. Un ejemplo de éstos es la penicilina y estreptomycinina utilizadas en unguento intramamario destinado al tratamiento y profilaxis de la mastitis en período de secado de las hembras bovina (Anadón, 2007).

Promotores de crecimiento: Desde el descubrimiento, en los años 40 de que bajas concentraciones de antibióticos, podían mejorar el índice de crecimiento en animales

domésticos, compuestos antibacterianos, se vienen utilizando ampliamente como promotores del crecimiento en producción animal. Se han usado diferentes antimicrobianos, como promotores del crecimiento observándose una mejora de la conversión en los animales y una reducción de la morbilidad y mortalidad debidas a las enfermedades subclínicas y clínicas. Los antibacterianos promotores del crecimiento pertenecen, a diversos grupos de antimicrobianos, no relacionados estructuralmente y ejercen su actividad antibacteriana por diversos mecanismos. Los cerdos y las aves reciben premezclas formuladas con Bacitracina y Sulfato de Colistina; para promover el crecimiento y eficientar la ganancia de peso (Montalvo, *et al* 2004).

Terapéutica: Esta es la forma ideal de tratamiento antimicrobiano, conociendo el germen causal. Es preferible recurrir siempre a antimicrobianos de espectro reducido, para poder aumentar la eficacia del tratamiento y reducir el eventual trastorno, que el antimicrobiano ejercerá sobre la flora comensal. Se recomienda únicamente la asociación de antibióticos, cuando éstos presentan efectos aditivos o sinérgicos. Los antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas, se encuentran en el grupo de los que son utilizados mayoritariamente de forma terapéutica en casos de mastitis clínicas u otras enfermedades que afectan al ganado. (Anadón, 2007).

La vía de administración, preferida por veterinarios, varía en función de las especies animales, aunque la alimentación mediante piensos adicionados con medicamentos, es una de las más usadas a la hora de medicar en los sectores zootécnicos, también se suele utilizar el agua de consumo diario para estos fines. En bovinos los sitios de inyección intramuscular más comunes son el anca, el muslo y el cuello. (Díez, *et al* 1999)

2.7.2 Antibióticos β -lactámicos.

Uno de los grupos antibióticos, más utilizados por su eficacia y casi nula toxicidad, es el de los β -lactámicos. Estos antibióticos, sufren un rápido deterioro de su potencia, en presencia de ácidos o álcalis y la mayoría son estables en soluciones amortiguadoras de fosfato y citrato con pH de 6-6.5. La velocidad con que se alteran las penicilinas en solución, aumenta con la temperatura (Sumano y Ocampo, 2006).

2.7.2.1 Espectro antibacteriano.

Los β -lactámicos son señalados como bactericidas para ciertos microorganismos durante su fase de proliferación. Tienen acción relativamente específica contra bacterias gram-positivas, pero en general es ineficaz contra de las gram-negativas. (Sumano y Ocampo, 2006).

2.7.2.2 Farmacocinética.

Los β -lactámicos suelen ser ampliamente distribuidos a través de todo el cuerpo. La mayoría de las drogas alcanzan niveles terapéuticos en los riñones, hígado, corazón, piel, pulmones, intestinos, bilis, hueso, próstata y líquido peritoneal, pleural y sinovial. La mayoría de β -lactámicos se excreta con rapidez y sin cambios a través de los riñones en la orina por medio de filtración glomerular y secreción tubular (Donald y Plumb,2010)

2.7.2.3 Farmacodinamia.

Por lo general los son bactericidas contra las bacterias susceptibles y actúan por inhibición de la síntesis de mucopéptido en la pared celular. Se ha demostrado que los antibióticos β -lactámicos se unen dentro de la membrana citoplasmática de la bacteria a varias enzimas (carboxipeptidasas, transpeptidasas, endopeptidasas) involucradas en la síntesis de la pared celular (Donald y Plumb,2010)

Las diferentes afinidades que tienen los diversos antibióticos de éste grupo por las enzimas ayudan a explicar los diferentes espectros de actividad que tienen las drogas y que no se deben a la influencia de las β -lactamasas (Donald y Plumb,2010)

2.7.2.4 Efectos adversos.

Las penicilinas tienen baja toxicidad, aunque es importante señalar que es probable enfrentarse a una reacción alérgica con cualquiera de ellas. Los signos de esa reacción van desde urticaria, diarrea, edema generalizado y otros signos que no amenazan la vida del paciente, hasta choques anafilácticos agudos de consecuencias fatales. (Sumano y Ocampo, 2006).

2.7.2.5 Periodo de retiro.

La penicilina, interfiere en la transformación de la leche en otros derivados; por ejemplo su acción inhibitoria sobre bacterias coagulantes de la leche impide la elaboración de quesos, por esta y muchas razones más deben establecerse y respetarse los tiempos de retiro establecidos para cada antimicrobiano (López, *et al* 2006)

La frecuencia de administración, está determinada por las velocidades de absorción, metabolismo y eliminación de un medicamento, que a su vez condiciona el periodo de retiro de productos y subproductos de origen animal.

La mayoría de los medicamentos, abandonan la corriente sanguínea y probablemente su lugar de acción a una velocidad proporcional a su concentración; esto es: cuanto más alta su concentración, tanto más rápida su velocidad de eliminación y viceversa. (Meyer,1982) (ver Cuadro A -2).

2.7.3 Tetraciclinas.

2.7.3.1 Espectro antibacteriano.

Las tetraciclinas se conocen como antibióticos de amplio espectro porque muestran un amplio intervalo de actividad antibacteriana. Tienen actividad contra la mayoría de micoplasmas, espiroquetas, clamidias y las rickettsias. Contra las bacterias grampositivas, presentan algo de actividad frente a las cepas de estafilococos y estreptococos, aunque la resistencia de estos microorganismos está en aumento. Dentro de las bacterias grampositivas que suelen estar cubiertas por las tetraciclinas incluyen *Actinomyces spp*, *Bacillus anthracis*, *Clostridium perfringens* y *tetanii*, *Listeria monocytogenes* y *Nocardia* (Donald y Plumb,2010)

2.7.3.2 Farmacocinética.

Las tetraciclinas cruzan la placenta, ingresan en la circulación fetal y se distribuyen en la leche. Estas tetraciclinas como clase, después de la administración intramuscular, son errática y escasamente absorbida. Los niveles séricos suelen ser más bajos que los alcanzados con la administración oral (López, *et al* 2006)

Tanto la oxitetraciclina como la tetraciclina se eliminan sin modificar, principalmente por filtración glomerular. Los pacientes con deterioro de la función renal pueden tener una eliminación prolongada de las vidas medias y acumular la droga con dosis repetidas (Donald y Plumb,2010)

2.7.3.3 Farmacodinamia.

Inhiben la síntesis de proteínas de la bacteria al ligarse a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, y al evitar la llegada del Acido Ribonucleico de Transferencia (ARNt) al sitio

aceptor en el complejo Acido Ribonucleico Mensajero (ARNm) – ribosoma. Estos antibióticos, entran a las bacterias gram negativas por difusión pasiva a través de canales hidrófilos formados por porinas, posteriormente el transporte a través de la membrana citoplasmática, se hace por medio de un transporte activo, sistema que depende de energía y que bombea tetraciclinas a través de la membrana citoplasmática. (López, *et al* 2006)

2.7.3.4 Efectos adversos.

La oxitetraciclina y la tetraciclina administradas a animales jóvenes, pueden causar coloración de los huesos y los dientes a un color amarillo, marrón o gris.

En los rumiantes, las dosis orales altas pueden causar disminución de la microflora ruminal. Cuando se administran por vía intramuscular, pueden presentarse reacciones locales, tinción amarillenta y necrosis en el sitio de inyección (Donald y Plumb, 2010)

2.7.3.5 Periodo de retiro.

Siendo las tetraciclinas productos de uso común en veterinaria, se debe llevar un control estricto de los tiempos de retiro de ordeña o rastro. Para mantener los niveles adecuados de calidad del producto o sub producto animal destinado para consumo humano (López, *et al* 2006) (ver Cuadro A-3).

2.8 Codex alimentarius.

En 1963, la FAO/OMS estableció la Comisión del Codex alimentarius, para desarrollar una serie de normas alimentarias, aceptadas internacionalmente, con el objetivo de proteger la salud del consumidor y asegurar prácticas equitativas en el comercio de los alimentos. Una de las disposiciones del Codex alimentarius, se refiere a la presencia de residuos de medicamentos veterinarios; es por esto que se especifican los límites máximos de residuos (LMR) permisibles para numerosas sustancias, por tejido y especie animal. Dichos niveles fueron fijados por comités de expertos de la FAO/OMS con los datos generados por instituciones sanitarias; las modificaciones posteriores, se van haciendo públicas de manera periódica en reportes técnicos. Otras disposiciones importantes, incluidas en el Codex alimentarius se refieren a higiene de los alimentos, aditivos, residuos de plaguicidas o contaminantes, etiquetados, presentación, y métodos de muestreo, inspección y análisis idóneos, así como de certificación de los niveles de importaciones y exportaciones de carne. Su finalidad, es garantizar alimentos inocuos y de calidad a todas las personas en cualquier

lugar. El *codex alimentarius*, vela para que los consumidores puedan confiar, en cuanto a la calidad de los productos que se consumen y sean formulados con la inocuidad, calidad y equidad adecuadas en el comercio internacional de alimentos (Villar, *et al* 2012).

2.8.1 Límite máximo de residuos (LMR)

Tras la administración de un antibiótico a un animal, tiene lugar una metabolización, que favorece su eliminación y en conjunto, la detoxificación. Los piensos medicamentosos, pueden originar la presencia, de residuos de dichos fármacos en los alimentos de origen animal, destinados al consumo humano. Los residuos de cualquier medicamento veterinario, en general, son sustancias farmacológicamente activas (ya sean principios activos, excipientes o bien productos de degradación y metabolitos) que permanecen en los productos alimenticios obtenidos, a partir de animales a los que se les ha administrado el medicamento veterinario (Villar, *et al* 2012).

La localización de estos residuos es variable. El tejido muscular y la grasa, son los lugares preferentes, aunque también se han identificado en los tejidos menos consumidos, como son el hígado o el riñón. La toxicidad de estos residuos varía desde la inocuidad, hasta presentar consecuencias clínicas, hematológicas, bioquímicas, anatomopatológicas o incluso, causar la muerte. La desaparición de estos residuos puede ser rápida no dejando restos, o muy pocos, en los tejidos comestibles. Otros, en cambio, pueden originar residuos cuya desaparición es difícil necesitando un largo periodo para su eliminación o incluso, la prohibición de su uso. Resulta por ello necesario, establecer Límites Máximos de Residuos (LMR) para aquellas sustancias farmacológicas activas, que se utilizan en los medicamentos veterinarios (FAO, 2002).

El LMR se define como aquella concentración aceptable de una sustancia en los tejidos comestibles de un animal (músculos, hígado, riñones, grasa, leche, miel y huevos) y que al ser ingerida por el ser humano, no constituye ningún riesgo para su salud. Se fijan para cada especie animal y para cada tejido. De este modo, el valor del LMR de toda sustancia farmacológicamente activa, quedará fijado como una pareja compuesta por un residuo marcador y el tejido diana correspondiente para cada especie animal productora de alimentos (Cancho Grande, *et al* 2000).

Los valores de los LMR, en los diferentes tejidos deben reflejar la cinética de depleción teniendo en cuenta todas las fuentes de alimento, las condiciones de uso del medicamento,

la factibilidad de los tiempos de espera derivados y la disponibilidad de métodos analíticos adecuados para su determinación (Cancho Grande, *et al* 2000).

Para garantizar la salud y el bienestar de los animales, es completamente necesario disponer de medicamentos veterinarios, su utilización en animales productores de alimentos puede dejar residuos en los productos alimenticios obtenidos a partir de animales tratados indiscriminadamente. Partiendo de esta situación, y con el fin de proteger la salud de los consumidores, se hace igualmente indispensable, realizar una evaluación de la seguridad de estas sustancias, teniendo en cuenta las concentraciones de residuos medicamentosos dentro de los alimentos, la contaminación medioambiental, y los efectos farmacológicos o microbiológicos no deseados de sus posibles residuos. Así, una sustancia farmacológicamente activa, sólo puede utilizarse en animales productores de alimentos, si ha sido objeto de una evaluación de riesgo, con sólida base científica, y resultado favorable. Se establecen así Límites Máximos de Residuos (LMR) para esta sustancia cuando se considera necesario para proteger la salud humana. (CA, 2002) (ver Cuadro A-1).

2.8.2 Requisitos relativos a las materias primas.

La organización de las naciones unidas, para la alimentación y la agricultura por sus siglas en inglés (FAO) mediante el departamento de agricultura y protección del consumidor, menciona que no se deberá aceptar ninguna materia prima o ingrediente en un establecimiento, si se sabe que contiene parásitos, microorganismos indeseables, plaguicidas, medicamentos veterinarios, o sustancias tóxicas, descompuestas o extrañas que no se puedan reducir a un nivel aceptable mediante una clasificación y/o elaboración normales. Cuando proceda, deberán determinarse y aplicarse especificaciones para las materias primas (FAO, 2002).

Las materias primas o ingredientes, deberán inspeccionarse y clasificarse antes de la elaboración. En caso necesario, deberán efectuarse pruebas de laboratorio para establecer si son idóneos para el uso. Solamente se utilizarán materias primas o ingredientes sanos y adecuados (FAO, 2002).

2.8.3 Residuos como problema de salud pública.

Los antibióticos, se metabolizan por distintos mecanismos y persisten en diferentes tejidos, hasta su correcta eliminación, situación que genera dos nuevos problemas, que es necesario conocer y solucionar. El primero es la persistencia de residuos en los alimentos de origen

animal (leche, carne, vísceras, huevo, miel), que pueden desencadenar procesos alérgicos en las personas que consuman dichos alimentos y contribuir a la selección de bacterias resistentes en el intestino humano, y el segundo, la bio-acumulación en los residuos ganaderos (estiércol, purín, gallinaza), con los problemas de contaminación ambiental, de suelos y aguas que potencialmente pueden derivarse (Cancho Grande, *et al* 2000).

Para combatir el primer problema, se han establecido los tiempos de espera, destinados a garantizar niveles técnicamente seguros de residuos de antibióticos en alimentos, mientras que, para minimizar los problemas medioambientales, es necesario conocer las peculiaridades de adsorción y de degradación de cada antibiótico (Cancho Grande, *et al* 2000).

2.8.3.1 Resistencia bacteriana.

Pueden lograr resistencia a diferentes antibióticos y el médico, o el mismo paciente, recurren a uno nuevo, sin analizar a cuál es realmente susceptible, o si se trata de una infección bacteriana. Las enfermedades diarreicas pueden ser causadas también por virus o parásitos, para los que los antibióticos no surten efecto (Dávila, 2010).

“En estos casos, los individuos que son tratados innecesariamente con esos fármacos, o que suspenden prematuramente el tratamiento y son portadores de bacterias potencialmente patógenas, pueden ser el foco de generación, de variantes de esos microorganismos, que adquieren la capacidad de crecer en presencia de sustancias comúnmente usadas para el tratamiento de infecciones”. Tras varios eventos de este tipo, algunas cepas pueden adquirir multi-resistencia, incluyendo a aquellos tratamientos potentes, utilizados sólo en casos de infecciones donde otros no funcionan, o en los que se ha determinado que el organismo causante de la infección es renuente a los fármacos de uso común (Dávila, 2010).

La identificación de cepas resistentes, es cada vez más frecuente, reconoció el investigador José Luis Puente García del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México, quien aclaró que esos grupos de bacterias todavía son tratados con otras alternativas bajo vigilancia médica. “Las llamadas “superbacterias” aún son, afortunadamente, sucesos aislados, pero su existencia es una realidad y se conocen casos que evidencian el serio problema de salud que representan para la salud humana” (Dávila, 2010).

El problema, será menos frecuente en la medida que seamos más conscientes de que esos organismos existen, en buena parte, por el uso extendido e indiscriminado de antibióticos (Dávila, 2010).

El principal riesgo de los residuos antimicrobianos, lo constituye sin duda alguna, la posible aparición de bacterias resistentes tanto en animales como en personas. El uso de antibióticos causa una “presión selectiva” que les otorga a las bacterias resistentes a dicho antibiótico, la ventaja de proliferar en dicho medio; además, la bacteria, aun no siendo patógena, podría transferir su resistencia a las que sí lo son.

Existen estudios que demuestran el desarrollo de resistencias en bacterias no necesariamente patógenas (Villar, *et al* 2012).

2.8.3.2 Reacciones alérgicas

Las posibles reacciones agudas, por ingestión de alimento con residuos antimicrobianos y que no guardan relación dosis-efecto corresponden a reacciones alérgicas. Desde un punto de vista práctico y en función del tiempo transcurrido entre la toma del antibiótico y la aparición de los primeros síntomas, las reacciones alérgicas se clasifican en dos grandes grupos.

Inmediatas y no inmediatas: Las reacciones alérgicas inmediatas aparecen en menos de una hora tras la administración del antibiótico, y sus expresiones clínicas más habituales son la urticaria acompañada o no de angioedema y las reacciones anafilácticas. Las reacciones alérgicas no inmediatas se desencadenan, como mínimo, en una hora tras la administración del antibiótico; normalmente suelen aparecer a las 24-48 horas de iniciar el tratamiento. En un estudio experimental en el que se administró leche con concentraciones de 75 µg/L de penicilina (18 veces por encima del LMR permisible) a trece voluntarios con historia de hipersensibilidad a la penicilina G, se observaron reacciones cutáneas (urticaria) en cuatro de ellos (Ormerod, *et al* 1987).

La piel es el órgano más frecuentemente afectado en las reacciones alérgicas a antibióticos. Pueden aparecer lesiones en forma de urticaria, hinchazón en párpados y labios, picor, exantemas y lesiones ampollosas, que son las más graves. También pueden manifestarse reacciones generalizadas (anafilaxia), que se caracterizan por la aparición de picor palmo-plantar, eritema, enrojecimiento conjuntival, sensación de ahogo, vómitos, diarrea, mareo e incluso pérdida de conocimiento. Estos riesgos se tienen en cuenta a la hora de establecer los LMR. (Villar, *et al* 2012).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación.

La investigación se llevó a cabo en animales sacrificados en el rastro Municipal de Santa Ana que se encuentra ubicado en 25 Avenida sur y calle Libertad Oriente y tomando las muestras en los puntos de venta a los que esta carne y vísceras son distribuidas. (Mercado Colón) (Ver anexos Figura A-7)

3.2 Metodología de campo

Unidades experimentales: son descritas como un bovino macho o hembra destinados al sacrificio, del que fue tomada una muestra de ½ libra de hígado o ½ libra de carne.

Selección de unidades de muestreo: Las muestras fueron seleccionadas por medio de un muestreo no probabilístico, ya que no había un número exacto de animales que llegaban a faena y también se desconocía el número de vendedores a los que la carne era distribuida. Las muestras fueron 48, 24 correspondientes a hígado y 24 a carne proveniente del muslo,(conocido como posta) que es uno de los lugares predilectos de aplicación para estos productos.

La fase de campo se compuso de tres períodos de recolección de muestras, cada uno con duración de dos semanas. Las muestras provenían del rastro Municipal de Santa Ana, el cual era visitado en cada período de muestreo, para realizar una encuesta y lograr establecer así la trazabilidad de las canales de los animales sacrificados en éstas instalaciones. Se tomó las muestras en los puestos del mercado colón al que la carne e hígados eran distribuidas. En cada período se tomó 8 muestras de carne y 8 de hígado, formando un total de 16 muestras que fueron examinadas por período de muestreo, haciendo un total de 48 muestras a analizar.

3.2.2 Procedimiento de la toma de muestra

- Se tomó las muestras en los puestos indicados por los dueños de las canales; ½ libra de hígado y carne.
- Se depositó cada muestra en una bolsa plástica hermética y fue identificada.

- Las muestras fueron identificadas con un número correlativo del 1 al 24 y la letra C para muestras de carne y la letra H para muestras de hígado. Ejemplo: 2C, siendo 2 el número correlativo de la muestra y C la letra para indicar que esa muestra es correspondiente a carne.
- Se colocaron las muestras en una hielera con bolsas de gel refrigerante y se transportaron al laboratorio el mismo día.
- El análisis de las muestras inició el día de recolección de las mismas. Las muestras que no estaban siendo analizadas eran refrigeradas.

3.3 Metodología de laboratorio

El análisis de las muestras fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador. En esta fase se analizó cada una de las muestras obtenidas de cada bovino. Cada período de muestreo consistió en el análisis de 16 muestras: ocho de hígado y ocho de carne.

Se utilizó el método microbiológico cuantitativo, establecido por el Manual de Análisis Bacteriológicos (BAM por su siglas en inglés), de cilindro-placa con *Micrococcus luteus* para detección de β -lactámicos en leche y *Staphylococcus aureus* para detección de tetraciclinas, haciendo los ajustes necesarios en el procesamiento de la muestra para utilizar ésta técnica. Antes de iniciar la fase de laboratorio se lavó y empaquetó la cristalería para luego ser esterilizada. Se reconstituyó los medios de cultivo de acuerdo a las instrucciones de cada etiqueta, se preparó tubos con agar inclinado para sembrar las bacterias a utilizar y solución salina en tubos de ensayo que luego fueron esterilizados en autoclave.

3.3.1 Medios de cultivo

La reconstitución de éstos se realizó con las especificaciones del fabricante, con agua destilada como solvente. Posteriormente se esterilizó en autoclave a 121 °C a 15 libras de presión por 15 minutos.

Medio antibiótico No. 1 y Medio antibiótico No. 11: fueron utilizados para la detección de residuos de antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas respectivamente, determinando la actividad de un antibiótico mediante halos de inhibición en el crecimiento bacteriano de *Micrococcus luteus* y *Staphylococcus aureus*.

Medio Antibiótico No. 4: fue utilizado para la suspensión bacteriana del inóculo de ambos antibióticos, ya que su composición proporciona a ambos microorganismos todos los requerimientos nutricionales para su crecimiento (The United States Pharmacopoeia, 2009)

3.3.2 Preparación de *Micrococcus luteus* y *Staphylococcus aureus*.

Se prepararon los microorganismos por lo menos dos días antes de la realización de las pruebas.

Se transfirió *Micrococcus luteus* a tubos de ensayo con agar inclinado de Medio Antibiótico No. 1 y *Staphylococcus aureus* a tubos de ensayo con agar inclinado de Medio Antibiótico No. 11; se incubaron de 18 a 24 horas a 32-35 °C.

El crecimiento fue lavado con 1 a 2 mL de solución salina y transferido a una botella de Roux con 300 mL de Medio Antibiótico No. 1 para β -lactámicos y Medio Antibiótico No.11 para tetraciclina. Se incubaron de 18 a 24 horas a 32-35 °C. Se repitió el proceso de lavado de la superficie de cada uno, ahora con 50 mL de solución salina y fue recolectado en un tubo de ensayo, para ser guardado en refrigeración y usar el inóculo por un máximo de dos semanas. (ver anexos Figura A-3)

Por cada 100 mL de medio antibiótico No.4 se utilizó de 0.1 a 0.5 mL del inóculo. (Maturín, 2001).

3.3.3 Preparación de placas

Se añadió 10 mL de Medio Antibiótico No. 1 y Medio antibiótico N° 11 fundido y mantenido a 45 °C a cada caja de petri vacía y estéril, para β -lactámicos y tetraciclinas respectivamente. Se homogenizaron y se dejaron solidificar en superficies planas. Se agregó de 0.1 a 0.5 mL del inóculo preparado con anterioridad a cada 100 mL del Medio antibiótico N° 4 fundido y mantenido a 45°C., cada uno a su respectivo medio *Micrococcus luteus* para β -lactámicos y *Staphylococcus aureus* para Tetraciclinas.

Se realizó una mezcla homogénea y se añadió 4 mL del agar inoculado a cada placa petri con pipetas graduadas y se distribuyó uniformemente por medio de movimientos circulares. Se dejó endurecer. Estas placas fueron preparadas el día de su utilización. Todo el procedimiento fue realizado cerca de un mechero para evitar la contaminación. (Maturín, 2001).

3.3.4 Preparación de la curva estándar.

Se preparó la solución stock de penicilina G para la cuantificación de β -lactámicos, disolviendo una cantidad pesada de manera exacta de penicilina sin excipientes en buffer fosfato a manera de obtener una solución que contenía 1000 UI/mL. Se hizo diluciones para obtener concentraciones de de 0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1 y 0.2 U/mL, siendo la concentración de referencia 0.05UI/mL. Esta solución fue usada por dos días.

Para la solución Stock de Tetraciclina, se disolvió una cantidad calculada y pesada de Tetraciclina HCl sin excipientes, a la cual se le agregó Ácido Clorhídrico 0.1 N para obtener una solución de 1 mg/mL de concentración, a partir de la cual se preparó diluciones hasta obtener concentraciones de 0.03, 0.06, 0.12, 0.24, 0.48 y 0.96 μ g/mL. La concentración de referencia fue de 0.24 μ g/mL. La solución Stock de tetraciclina se utilizó por un día.

Para cada punto de la curva se utilizó tres placas petri con Agar inoculado, se colocaron seis cilindros de acero inoxidable separados uniformemente, para cada tipo de antibiótico, se llenaron de forma alterna tres cilindros con la concentración de referencia (0.05UI/mL para β -lactámicos y 0.24 μ g/mL para tetraciclinas) y los otros tres cilindros con cada una de las diluciones. Se esperó que las tres placas con las concentraciones más bajas produjeran resultados negativos, es decir que no produjeran halos de inhibición medibles, y las 12 placas restantes formaron la línea estándar de respuesta, dando 45 determinaciones de la concentración de referencia y 9 determinaciones para cada punto de la línea. Los resultados positivos produjeron halos de inhibición medibles. Las placas fueron tapadas e incubadas de 16 a 18 horas a 30 °C.

Las placas fueron invertidas para remover los cilindros y los diámetros de cada zona de inhibición se midieron de la manera más exacta, reportando los valores en milímetros. Los valores fueron graficados para así poder construir una línea recta que atravesara los puntos. (Maturín , 2001). (ver anexos Figura A-4 – Figura A-5)

3.3.5 Controles

Se utilizó un control para indicar que el grado de precisión y exactitud de los resultados obtenidos derivan de la muestra y no de condiciones ambientales. Las concentraciones estándares más bajas de la curva (0.00625 UI/mL y 0.03 μ g/mL), deben producir resultados negativos (es decir, no producción de halo o un halo de inhibición del mismo diámetro del cilindro), indicando que el antibiótico (β -lactámico ó tetraciclina) puede estar presente pero

en un nivel debajo del límite de detectabilidad. La concentración estándar antes de la más baja en la curva, debe siempre producir resultados positivos (halo de inhibición mayor al diámetro del cilindro). La sensibilidad de la prueba es normalmente de 0.01 U/mL para antibióticos β -lactámicos.

Por cada muestra se realizó tres repeticiones para ambos tipos de antibióticos, además de realizar la curva estándar en la cual se utilizaron 15 placas para cada antibiótico cada vez que se trabajó un lote de muestras.

El diluyente control siempre produjo resultados negativos (Maturín, 2001).

3.3.6 Preparación de la muestra.

Las muestras de carne e hígado fueron maceradas y luego coladas para extraer solamente el contenido líquido de cada una de ellas, el líquido fue colocado en tubos de ensayo, estériles y rotulados de la misma manera que la bolsa que contenía la muestra. Todas las muestras fueron maceradas y almacenadas en los tubos el día de la recolección. Las que no fueron analizadas ese día fueron puestas a congelar para su posterior análisis.

3.3.7 Preparación de placas: Muestra

Se utilizaron las placas previamente preparadas y se colocaron seis cilindros en cada placa, teniendo en cuenta que deben tener la misma distancia entre cada uno, tres de éstos cilindros fueron llenados con la concentración estándar correspondiente a cada antibiótico, y los otros tres se llenaron con la muestra. Los cilindros fueron llenados de manera intercalada. (ver anexos Figura A-6)

3.3.8 Incubación y medición de halos de inhibición.

Se realizó el procedimiento mencionado tres veces por cada muestra. Se taparon las placas y fueron incubadas de 16 a 18 horas a 30°C. Las placas se invirtieron para remover los cilindros y los halos de inhibición fueron medidos con un escalímetro reportando los valores en milímetros.

3.3.9 Cálculo de potencia

Se promedió las zonas de lectura del estándar y las zonas de lectura de las muestras en tres placas. Se ajustó los valores sumando o restando la diferencia entre cada uno de ellos y se buscó la concentración de dicho valor ajustado en la curva estándar. Se leyó la concentración en la curva estándar correspondiente al tamaño de muestra ajustado.

3.4 Metodología estadística

Las muestras fueron tomadas en tres grupos de 16 (ocho de hígado y ocho de carne en cada grupo), dando un total de cuarenta y ocho muestras. Para determinar el número de muestras se utilizó muestreo no probabilístico, ya que se desconocía el número exacto de animales que llegaban a faena y también se desconocía el número de vendedores a los que la carne era distribuida. Éste muestreo consistió en tres visitas al Rastro Municipal de Santa ana, para realizar una encuesta y lograr establecer así la trazabilidad de las canales de los animales sacrificados en éstas instalaciones. Las muestras fueron tomadas de 8 de los vendedores del Mercado municipal Colón, que fueron identificados como los que recibían las canales provenientes del Rastro Municipal.

Para el análisis de los resultados obtenidos de las 48 muestras a las que se le realizó la prueba microbiológica cilindro placa para determinación de antibióticos, se aplicó estadística descriptiva, en un primer momento realizando análisis multivariado, específicamente componentes principales con una significancia de 0.5%, para identificar cual de los antibióticos estaba produciendo la mayor variación. Las muestras fueron también analizadas por el método de conglomerados pero el coeficiente cofenético fue mayor en el análisis multivariado de componentes principales (0.966), lo que determinó que éste método era el mejor para el análisis de las variables medidas en ésta investigación. (Balzarini, *et al* 2008).

Anterior al análisis descriptivo los datos obtenidos originalmente fueron graficados en una curva de regresión de la que se extrajo la ecuación lineal, que luego fue despejada para obtener el valor de "x", que en éste caso corresponde a la cantidad de $\mu\text{g}/25\text{mL}$; luego ésta cantidad fue transformada a $\mu\text{g}/\text{kg}$, para poder ser comparados con los valores especificados por las normas del Codex Alimentarius (ver Anexo A-1 – Anexo A-4)

4. RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1 Determinación de tetraciclinas.

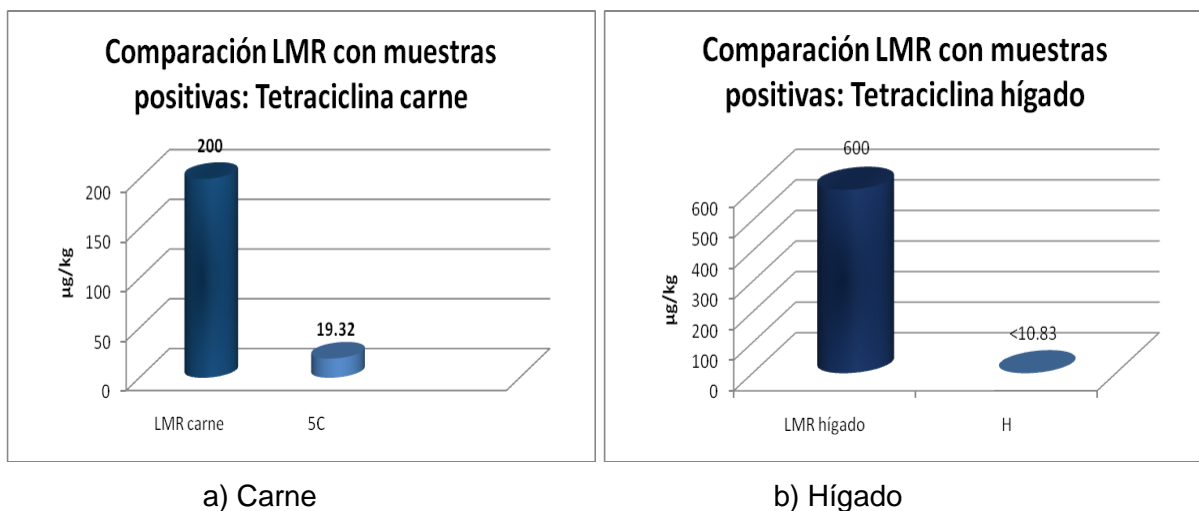
Tabla 1. Concentraciones de tetraciclina obtenidas en carne e hígado de bovinos ($\mu\text{g}/\text{kg}$).

Contenido de tetraciclina($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
Muestra	Carne	Hígado
1	<10.83	<10.83
2	<10.83	<10.83
3	<10.83	<10.83
4	<10.83	<10.83
5	19.32*	<10.83
6	<10.83	<10.83
7	<10.83	<10.83
8	<10.83	<10.83
9	<10.83	<10.83
10	<10.83	<10.83
11	<10.83	<10.83
12	<10.83	<10.83
13	<10.83	<10.83
14	<10.83	<10.83
15	<10.83	<10.83
16	<10.83	<10.83
17	<10.83	<10.83
18	<10.83	<10.83
19	<10.83	<10.83
20	<10.83	<10.83
21	<10.83	<10.83
22	<10.83	<10.83
23	<10.83	<10.83
24	<10.83	<10.83

(*) = valores positivos que se encontraron por debajo de los límites establecidos por la norma: 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para carne y 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para hígado (ver anexos Cuadro A-1)

Los datos obtenidos demuestran la ausencia de residuos de tetraciclina en la mayoría de las muestras para carne y para hígado, siendo la muestra número 5 de carne positiva a contenido de residuos de tetraciclina con 19.32 $\mu\text{g}/\text{kg}$; de las 48 muestras tomadas dentro del estudio ninguna sobrepasa los límites de tetraciclinas permitidos en alimentos de origen animal. Cabe mencionar que todas las muestras fueron mantenidas en igualdad de condiciones desde la toma hasta el análisis. (Codex alimentarius 2012)

GRAFICO 1. Comparación de límites máximos de residuos permitidos por el Codex alimentarius con muestras positivas a residuos antibióticos: tetraciclina carne



Se observa en el Gráfico 1 que ninguna de las muestras positivas a residuos de tetraciclina, sobrepasa los límites máximos de residuos permitidos de consumo establecidos por el Codex alimentarius.

4.2 Determinación de antibióticos β -lactámicos.

Tabla 2. Concentraciones de antibióticos β -lactámicos obtenidas en carne e hígado de bovinos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Concentración de β -lactámicos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
Muestra	Carne	Hígado
1	1.21*	<0.78
2	<0.78	<0.78
3	<0.78	<0.78
4	<0.78	1.69*
5	<0.78	<0.78
6	<0.78	3.65*
7	4.13*	<0.78
8	3.13*	<0.78
9	<0.78	<0.78
10	0.87*	<0.78
11	2.37*	<0.78
12	<0.78	<0.78
13	<0.78	<0.78
14	2.91*	<0.78
15	8.82*	<0.78
16	<0.78	<0.78
17	<0.78	<0.78
18	6.15*	<0.78
19	<0.78	<0.78
20	<0.78	<0.78
21	<0.78	<0.78
22	5.76*	7.02*
23	<0.78	<0.78
24	5.30*	<0.78

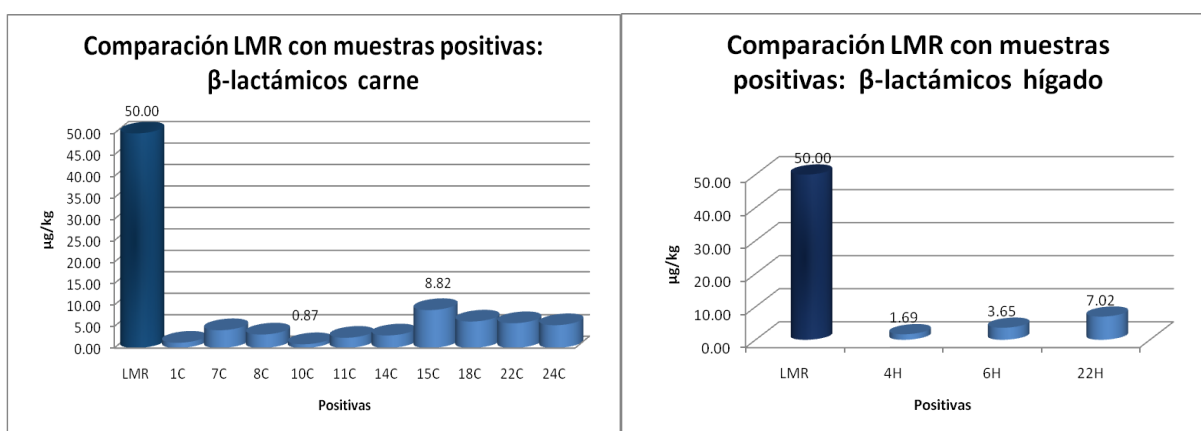
(*) = valores positivos que se encontraron por debajo de los límites establecidos por la norma: 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para carne e hígado (ver anexos Cuadro A-1)

El número de muestras positivas a residuos antibióticos β -lactámicos es de 13, lo que representa que el 27.08 por ciento de las muestras contiene residuos antibióticos β -lactámicos, siendo la muestra número 15 de carne la de mayor concentración antibiótico con 8.82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y la de menor concentración la muestra número 10 de carne con 0.87 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Además, en el caso de las penicilinas, estos residuos podrían llegar a ser suficientes para desatar una reacción alérgica en un individuo que presente susceptibilidad a una alergia, ya que, no guardan relación dosis-efecto. (Ormerod, *et al* 1987).

En este caso se concluye que el tiempo de retiro no está siendo respetado por los ganaderos, ya que aunque las concentraciones encontradas en las muestras no sobrepasan las concentraciones de las normas, se encontró residuos que no serían notables si el tiempo de retiro fuese respetado.

GRAFICO 2. Comparación de límites máximos de residuos permitidos por el Codex alimentarius con muestras positivas a residuos antibióticos: β -lactámicos.



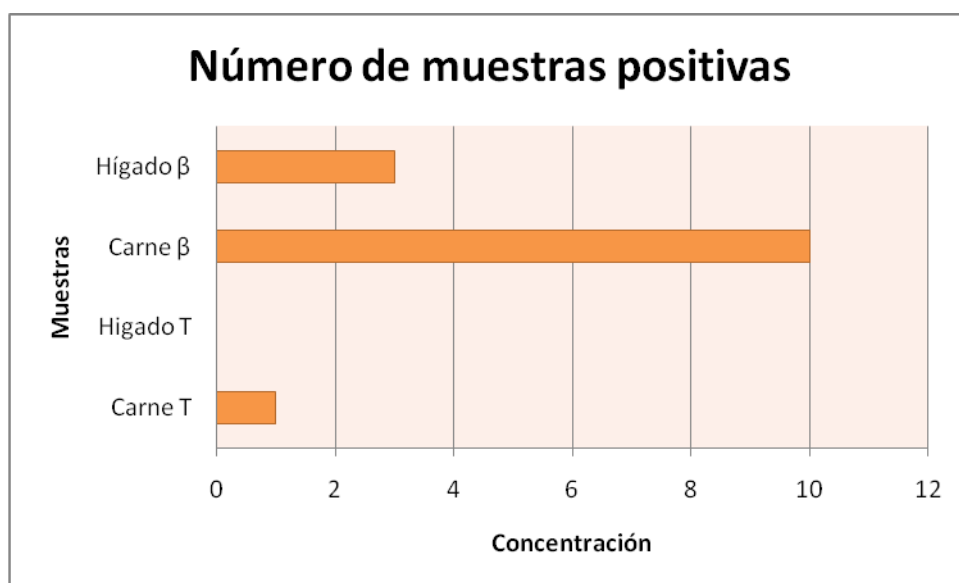
a) Carne

b) Hígado

Ninguna de las muestras encontradas positivas a residuos antibióticos β -lactámicos sobrepasó los Límites máximos de residuos de consumo al día permitidos por el Codex alimentarius.

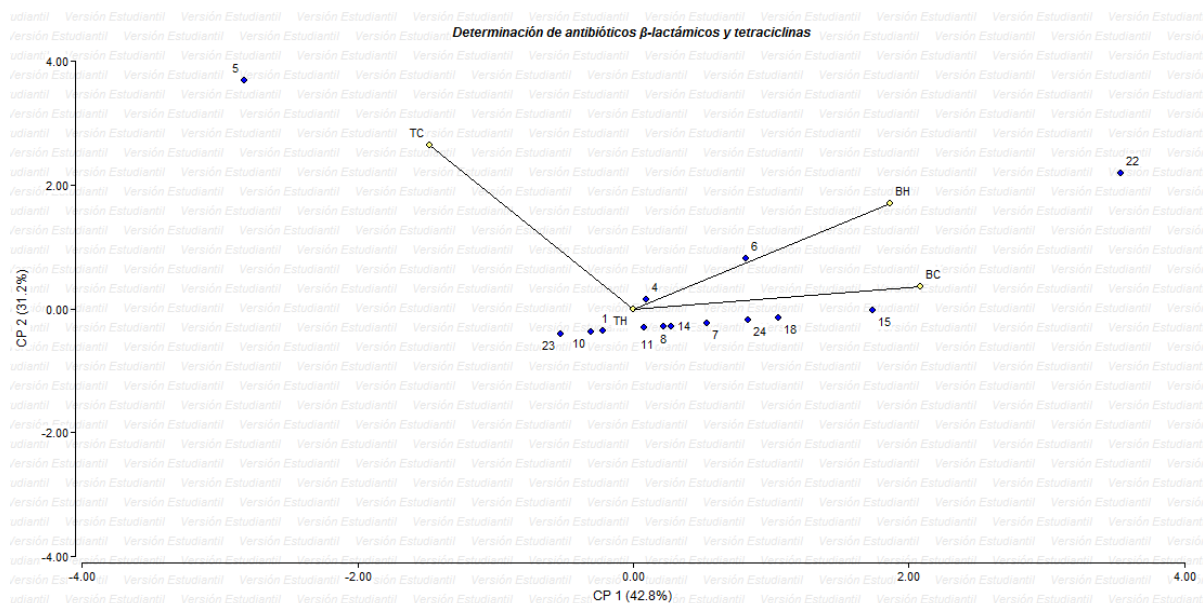
4.3 Comparación de muestras positivas.

GRAFICO 5. Número de muestras positivas a residuos de antibióticos, β -lactámicos y tetraciclinas.



Aunque ninguna de las concentraciones de antibióticos de las muestras positivas sobrepasa los límites permitidos de ingesta diaria fijados por el Codex Alimentarius, el número de muestras positivas a residuos de antibióticos β -lactámicos es notablemente mayor al número de muestras positivas a residuos de tetraciclinas. Al comparar los resultados positivos a presencia de antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas podemos observar que un total de 13 muestras fueron positivas a β -lactámicos, de las cuales 10 corresponden a muestras de carne y 3 a muestras de hígado.

GRAFICO 4. Gráfico de Biplot: Determinación de antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas en carne e hígado bovinos.



TC= Tetraciclina en carne ; TH= tetraciclina en hígado; BC= β -lactámicos en carne; BH= β -lactámicos en hígado.

Al realizar el análisis de componentes principales se observa que dentro de los análisis microbiológicos realizados a las muestras, tanto de β -lactámicos como de tetraciclinas, los que producen el efecto son los β -lactámicos tanto en hígado como en carne y que son éstos mismos los que producen las mayores concentraciones en el eje "X", siendo los β -lactámicos en carne los que producen la mayor variación. En el eje "Y" la variación es producida solamente por la tetraciclina en carne ya que hubo una muestra positiva (5 carne), debido a que las muestras de tetraciclina en hígado fueron todas negativas. En este caso la variación del eje "Y" no es representativa ya que solamente está basada en un valor positivo.

Tal como se observa en el gráfico, las muestras de carne e hígado, tanto de β -lactámicos como de tetraciclinas, no pueden ser relacionadas (ver Tabla 3), debido a que no se cuenta con pares iguales, es decir, no hay igualdad de positivos.

Tabla 3. Matriz de correlación/ Coeficientes

	TC	BC	TH	BH
TC	1.00			
BC	-0.14	1.00		
TH	0.00	0.00		
BH	-0.07	0.21	0.00	1.00

Una de las situaciones que confirma la falta de relación entre éstos, es la presencia de residuos de tetraciclina en la muestra 5 de carne y la ausencia de β -lactámicos en la misma muestra, pues esto nos muestra que son exclusivas entre sí, es decir, si se encuentra tetraciclina no se encuentra β -lactámicos y viceversa.

Tabla 4. Autovalores

Lambda	Valor	Proporción	Prop. Acum
1	1.28	0.43	0.43
2	0.94	0.31	0.74
3	0.78	0.26	1.00
4	0.00	0.00	1.00

.Al analizar la tabla de autovalores podemos observar cual es la variación producida por cada uno de las variables, siendo la mayor variación la ejercida por tetraciclinas en carne correspondiente a un 43%, seguida de β -lactámicos en carne con un 31%. En este caso la tetraciclina en carne presenta un valor numérico más alto pero es el único, lo que le resta significancia, demostrando que la mayor variación es producida por β -lactámicos en carne, seguida de β -lactámicos en hígado con un 26%. Valores que son confirmados con la tabla de autovectores que muestran que β -lactámicos en carne explican el 66 por ciento de la variación en el eje x. (ver Tabla 5)

Tabla 5. Autovectores

Variables	Eje 1	Eje 2
TC	-0.47	0.84
BC	0.66	0.11
TH	0.00	0.00
BH	0.59	0.54

Es importante mencionar que al realizar el análisis de todas las muestras se hizo muy notable que las muestras con mayor cantidad de residuos antibióticos se hacen correspondientes a aquellas muestras en las cuales el macerado y el líquido extraído se encontraba visiblemente grasoso.

5. CONCLUSIONES

1. Respecto a la concentración y presencia de tetraciclinas y β -lactámicos, no existe relación, ya que se manifiestan de manera independiente en dichas muestras.
2. De las muestras de carne e hígado analizadas para determinación de residuos de antibióticos, el 27.08% de las muestras fueron positivas a residuos de β -lactámicos y el 2.08% a tetraciclinas; sin embargo ninguna de ellas sobrepasó los límites máximos de residuos establecidos por el Codex alimentarius.
3. La frecuencia de presencia de residuos antibióticos β -lactámicos encontrados en la presente investigación, es mayor a la de tetraciclinas. Esto puede deberse a un uso más frecuente debido al fácil acceso a éste tipo de medicamentos así como a su eficacia y casi nula toxicidad.
4. Los residuos antibióticos ya sea β -lactámicos o tetraciclinas, se encontraron mayoritariamente en la carne (78.57%) que en el hígado (21.43%).
5. En nuestro país no hay ninguna regulación específica referente al análisis y uso de antibióticos en alimentos destinados al consumo humano.

6. RECOMENDACIONES

1. Establecer programas de vigilancia y monitoreo, en campo y en lugares de faenado, para disminuir y evitar la residualidad de estos antibióticos.
2. Aplicar las normas de buenas prácticas pecuarias e informar a los productores, sobre el período de retiro de los antibióticos y la importancia de éste para la salud pública.
3. Desarrollar programas de vigilancia por parte de las autoridades del MAG y Ministerio de Salud, para velar que los residuos de antibióticos presentes en la carne y vísceras que se ofrecen al consumidor, estén por debajo de lo establecido por el Codex alimentarius y así prevenir o evitar cualquier reacción alérgica o mecanismo de resistencia antibiótica.
4. Fortalecer la infraestructura diagnóstica gubernamental con respecto al análisis de residuos antibióticos y fármacos en alimentos para consumo humano.
5. Analizar la grasa de los bovinos, ya que se visualizó que la carne e hígado con más contenido de grasa, presentaron resultados positivos de mayor concentración de antibióticos en ellas.
6. Realizar investigaciones similares, para analizar la presencia de otros antibióticos de uso veterinario que puedan causar efectos residuales en los humanos.
7. Facilitar y universalizar el análisis de residuos de antibióticos en alimentos para consumo humano.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Anadón, A. 2007. Antibióticos de uso veterinario y su relación con la seguridad alimentaria y salud pública (En línea). Es. Consultado el 18 de oct del 2013. Disponible en <http://www.racve.es>.
2. Angulo, VJ; Gallardo, CP; Gonzales, D; Montelongo, M; Magallon, RF; Kuhne, M. 2005. Identificación de penicilina y tetraciclina en Músculo y riñón de bovino y cerdo, mediante electroforesis con gel alto voltaje. Mex. (en línea) sahuayo Michoacán. Consultado el 2 de octubre del 2013. Formato pdf. Disponible en: http://www.cucba.udg.mx/anterior/publicaciones1/avances/avances_2005/Veterinaria/HernandezAnguloVeronica/HernandezAnguloVeronicaJezavel.
3. Arboix, M; Jiménez, M T; Landoni, F. 2002. Aspectos terapéuticos y de salud pública de los residuos farmacológicos. In botana. Mc Graw Hill. Madrid. Esp. 681 – 689 pg.
4. Balzarini M.G; Gonzales L; Tablada M; Casanoves F; Di Rienzo J. A; Robledo C.W. (2008). Infostat. Manual del usuario (Programas de computadora). Cordoba. Argentina. Editorial Brujas.
5. Banco multisectorial de inversión (BMI) 2002. Antecedentes y situación actual del sector ganadero y técnicas israelitas. Historia del sector ganadero de El Salvador. (En línea). El Salvador. Consultado el 08 de enero de 2015. Disponible en: <http://webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual/Fulltext/ADGP0000531/Capitulo%201.pdf>
6. Barrera, A; Ortez, E. 2012. Determinación de residuos de antibióticos β -lactámicos y Tetraciclinas en leche cruda de cinco ganaderías ubicadas en el Municipio de San Luis Talpa y en leche pasteurizada. Lic. Medicina veterinaria y zootec. Tesis. San Salvador, El Salvador. Universidad de El Salvador. 86 p.
7. CAC (Comisión del Codex Alimentarius) 2012. Límites Máximos de Residuos para Medicamentos Veterinarios en los Alimentos. (en línea). Consultado el 10 de septiembre del 2014. Disponible en: <http://www.codexalimentarius.org/codex-home/es/>
8. Cancho Grande, B.; García Falcón, M. S.; Simal Gándara, J. 2000. El uso de los antibióticos en la alimentación animal: perspectiva actual. (en línea). Consultado el 28 agosto del 2014. Disponible en: <http://webs.uvigo.es/altaga/cyta/cyta-3-2000-39-47.pdf>
9. Codex alimentarius. 2012. Residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. S.n.t. (en línea). Consultado el 15 de nov del 2013. Disponible en: <http://www.codexalimentarius.net/vetdrugs/data/vetdrugs/index.html?lang=es>
10. Comisión Económica Para América Latina (CEPAL). Las tendencias alimentarias 2000-2010. Importancia Económica y Social de la Cadena Agroalimentaria de Carne Bovina y

- Productos Cárnicos. (En línea). Consultado el 09 de enero de 2015. Disponible en: <http://www.rastreabilidad.org/cadena.php?id=133&s=9>.
11. Dávila Balmaceda, RD. 2007. Determinación de presencia de residuos de carnes bovinas en el mataredo industrial nuevo carnic. Tesis. Lic. M.V. Managua, Guatemala. U.N.A. 91 p.
 12. Dávila, R. 2010. Uso inapropiado de antibióticos ocasiona resistencia bacteriana (en línea). Mex. Consultado el 18 de oct del 2013. Disponible en: <http://journalmex.wordpress.com/2010/08/28/uso-indiscriminado-eantibioticos-favorece-desarrollo-de-bacterias-%E2%80%9Cmulti-resistentes%E2%80%9D/>.
 13. Depetris, J; marca liquida 2000. Calidad de la carne vacuna. (En línea). El salvador. Consultado el 09 de enero de 2014. Disponible en: http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/12-calidad_de_la_carne_vacuna.pdf.
 14. Diez, P; Calderón, V. 1999. Empleo de antibióticos en veterinaria (En línea). Consultado el 20 de oct del 2013. Disponible en: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol22/suple3/pdf/26resi.pdf>.
 15. Di Rienzo J.A; Casanoves F; Balzarini M.G; Gonzales L; Tablada M; Robledo C.W. (2013). Grupo InfoStat.(programa de computadora) FCA. Universidad Nacional de Córdoba Argentina.
 16. Donald,C; Plumb, P. 2010. Manual de farmacología veterinaria. Trad. J Mangieri. 6 ed. Buenos aires. AR. 1235 P.
 17. FAO (organización de las naciones unidas, para la alimentación y la agricultura. IT). 2002. Principios generales de higiene de los alimentos. S.I. 2 ed. S.n.t. v1B. 80 p.
 18. FAO, 2014 (Organización de las naciones unidas, para la alimentación y la agricultura). Panorama del mercado mundial de la carne. Perspectivas alimentarias-Análisis del mercado mundial 2014. (En línea). El salvador. Consultado el 08 de enero de 2015. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/background.html>.
 19. FAO, 2015 (Organización de las naciones unidas, para la alimentación y la agricultura). Sistemas de producción. (En línea). El salvador. Consultado el 08 de enero de 2015. Disponibe en: http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_productions.html.
 20. Flores, MR; Carrión. GM; Inocencio, OA; Tzintzun, RR; Tena, MJ; Ibarra R. 1999. Evaluación microbiológica de la leche cruda entera en el noroeste de Michoacán. Memorias XVI Reunión Nacional de Microbiología, Higiene y toxicología de los

- alimentos y Primer Congreso Internacional en seguridad de los alimentos. Mc Graw Hill Guadalajara. MX. 7 pg.
21. Giner Muñoz MT. 2005. Hipersensibilidad a medicamentos. (En línea). Barcelona. Consultado el 15 de noviembre de 2013. Disponible en http://www.sepeap.org/secciones/documentos/pdf/4_%20M_T_%20hipersensibilidad.pdf
 22. IICA. 2011. Caracterización de la cadena productiva de lácteos en el Salvador. El Salvador. MAG-CENTA. pp 125.
 23. Irala, A. 2011. Uso de aditivos en alimentación del ganado bovino. (en línea). El salvador. Consultado el 16 de febrero de 2015. Disponible en: <http://www.engormix.com/MAG-ganaderia-carne/nutricion/articulos/uso-aditivos-alimentacion-ganado-t3227/141-p0.htm>
 24. Larsson M, 2005. Antibiotic medication and bacterial resistance to antibiotics: a survey of children in a Vietnamese community. *Tropical Medicine and International Health*. 5(20): 711–721 p.
 25. MAG 2003. (Ministerio de agricultura y ganadería) Diagnóstico de los recursos zoonóticos. (En línea). El salvador. Consultado el 09 enero de 2015. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1250e/annexes/countryreports/elsalvador.pdf>
 26. Maynard, L; Loosli, J. 1962. *Animal Nutrition*. New York (u.a.): McGraw-Hill, 1962. Pág. 385.
 27. Maturin, L. 2001. BAM (Bacteriological Analytical Manual): Chapter 20A Inhibitory Substances in Milk. (En Línea). Washington DC, US, FDA. Consultado 12 de octubre de 2013. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm072661.html>
 28. Medina, S; Gonzales, D; Ramírez. A. 2008. Detección de residuos antimicrobianos en tejidos comestibles y tetraciclina en hueso de cerdo (En Línea). Consultado el 1 de octubre del 2013 formato HTML. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253570X2008000200007&script=sci_arttext
 29. Meyer, J. 1982. *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Trad. MT toral. 2 ed. México, UTEHA. 928 pg.
 30. Montalvo, M; Olivos, O; Gilaberts; Rodríguez, A. 2004. Análisis del riesgo de los medicamentos veterinarios presentes en los alimentos: Actualidad en farmacología y Terapéutica. S.n.t. 168- 169 p.
 31. OMS 2000 (Organización Mundial de la Salud, GN) Boletín de medicamentos esenciales: resistencia a los antimicrobianos. (En línea). Consultado el 14 de nov del 2013. Disponible en <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js2250s/>.

32. Ormerod, A.D; Reid,T.M.S; Main, R. A. 1987. Penicillin in milk - its importance in urticaria. *Clinical and experimental allergy*. 17: 229–234pg.
33. Rocha de McGuire, AE. 2012. Antibióticos en carne y su impacto en la salud (en línea). *Nutrien*. Consultado el 13 de nov. De 2013. Disponible en: <http://nutrien.com.mx/secciones/alimentacion/95-antibioticos-en-la-carne-y-su-impacto-en-la-salud.html>
34. SAGARPA (Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación) 2012. Calidad en puntos de venta de carne. (en línea). 1 ed. Queretaro MX. consultado el 10 de feb de 2015. disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Documents/MANUALES%20INIFAP/Calidad%20en%20puntos%20de%20venta%20de%20carne.pdf>
35. SAGARPA, sf. (Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación) Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en el Sistema de Producción de Ganado Bovino Productor de Carne en Confinamiento. (En línea). El Salvador. Consultado el 14 de enero de 2015. Disponible en: http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Documents/Manuales_buenaspraticas/manual_bovino.pdf
36. Seré,C ; Steinfeld, H, 1996. World livestock production systems: current status, issues and trends. *Animal production and health paper No127*. FAO. Rome
37. Sumano López, HS; Ocampo Camberos, L. 2006. *Farmacología veterinaria*. México, Mc Graw-Hill Interamericana. 3 ed. 1061 pg.
38. The United States Pharmacopoeia. 2009. The United States Pharmacopoeial Convention. Rockville, MD.
39. The Wall Street Journal, 2014. Crece preferencia por carnes sin antibióticos. (En línea). El Salvador. Consultado el 08 de Enero de 2015. Disponible en: http://www.centralamericadata.com/es/article/home/Crece_preferencia_por_carne_sin_antibioticos.
40. Valiente,P; Fakuda, G; Hincapié, J; Jaramillo, P. 2002. Determinación de residuos de oxitetraciclina en hígado de res sacrificado en Tegucigalpa (en línea) Consultado 18 de noviembre de 2013. Disponible en <http://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/1555#sthash.4DqTmDPW.dpuf>
41. Villar, D; olivera, M; Didier, Ruiz, J. chaparro, J. 2012. Aproximación al tema de residuos antimicrobianos y antiparasitarios en leche: límites permisibles y tiempo de retiro. S.n.t. 1-84 p.

8. ANEXOS

LISTA DE CUADROS

Cuadro A- 1 Límites máximos de residuos β -lactámicos y tetraciclinas permitidos en los diferentes tejidos animales.

Especie.	Tejido.	LMR ($\mu\text{g}/\text{kg}$) tetraciclinas.	LMR ($\mu\text{g}/\text{kg}$). β -lactámicos.
Vacuno/ bovinos.	Músculo.	200 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	50 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Vacuno/ bovinos.	Hígado.	600 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	50 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Fuente: (Codex alimentarius, 2012).

Cuadro A- 2 Tiempo de retiro de antibióticos β -lactámicos, para envío a rastro de ganado bovino.

Fármaco.	Tiempo de retiro para rastro.
Penicilina sódica y potásica.	5-6 días
Penicilina G procainica.	7 días.
Penicilina G benzatinica.	30 días.
Cloxacilina.	10 días.
Ampicilina.	
Amoxicilina.	25 días inyectables, 12 días infusión intramamaria.
Cefalexina	24-36 horas.

Fuente: (Sumano y Ocampo, 2006)

Cuadro A- 3 Tiempo de retiro de las tetraciclinas, para envío a rastro de ganado vacuno.

Tetraciclina.	Retiro (Vía oral)	Retiro (Intramuscular)
Oxitetraciclina.	5 días.	45 días.
Clortetraciclina.	5 días.	-
Doxicilina.	10 días.	60 días.
Tetraciclina.	5 días.	-

Fuente: (Meyer, 1982).

Anexo A- 1 Tablas de recolección de datos.

Nombre del Estándar: Tetraciclina Clorhidrato			Estándar de Referencia:		
Microorganismo de Prueba: <i>Staphylococcus aureus</i>					
Fecha: 30/Septiembre/2014					
LECTURAS HALOS DE DIAMETRO DE INHIBICION (mm)					
0.24 µg/mL (Ce)	0.96 µg/mL (E)	0.24 µg/mL (Cd)	0.48 µg/mL (D)	0.24 µg/mL (Cb)	0.12 µg/mL (B)
10	11	10	10	11	8
9	10	9	11	10	7
9	11	9	12	11	8
11	11	11	12	12	8
10	11	10	10	10	9
9	10	9	10	11	8
10	12	9	10	10	8
11	13	9	9	9	7
11	13	11	11	10	9
$\bar{X}=10.00$	$\bar{X}=11.33$	$\bar{X}=9.60$	$\bar{X}=10.55$	$\bar{X}=10.44$	$\bar{X}=8.00$
0.24 µg/mL Ca	0.06 µg/mL (A)	0.24 µg/mL	0.03 µg/mL	Información para graficar	
11	7	10	3	C = 10.27	
11	8	10	7		
12	9	9	6		
12	8	12	7		
10	7	10	7		
10	7	11	9		
11	8	10	7		
10	9	11	6		
12	8	10	9		
$\bar{X}=11.00$	$\bar{X}=7.88$	$\bar{X}=10.33$	$\bar{X}=6.55$		

Nombre del Estándar: Tetraciclina Clorhidrato					
Microorganismo de prueba: <i>Staphylococcus aureus</i>					
Fecha: 02/Octubre/2014					
LECTURA DIAMETROS DE HALOS DE INHIBICION (mm)					
0.24 µg/mL	4C	0.24 µg/mL	5C	0.24 µg/mL	6C
10	0	10	9	10	0
10	0	10	8	11	0
9	0	10	7	11	0
11	0	10	8	10	0
10	0	10	7	10	0
10	0	10	8	10	0
10	0	10	8	10	0
11	0	10	7	10	0
9	0	10	8	11	0
$\bar{X}=10.00$	$\bar{X}=0.00$	$\bar{X}=9.00$	$\bar{X}=7.78$	$\bar{X}=10.33$	$\bar{X}=0.00$
0.24 µg/mL	4H	0.24 µg/mL	5H	0.24 µg/mL	6H
10	0	11	0	11	0
10	0	10	0	10	0
8	0	10	0	11	0
10	0	11	0	11	0
9	0	10	0	10	0
10	0	10	0	10	0
10	0	11	0	10	0
9	0	11	0	11	0
10	0	10	0	11	0
$\bar{X}=9.56$	$\bar{X}=0.00$	$\bar{X}=10.44$	$\bar{X}=0.00$	$\bar{X}=10.55$	$\bar{X}=0.00$

Anexo A- 2 Hoja de cálculo: corrección de estándares

HOJA DE CÁLCULO.				
<i>Determinación de residuo antibiótico en carne e hígado de res.</i>				
<i>Antibiótico de prueba: Tetraciclina Clorhidrato.</i>				
<i>Microorganismo: Staphylococcus aureus.</i>				
CALCULO DE CORRECCION DE ESTÁNDARES.				
CE= 90/9	CD= 87/9	CB= 94/9	CA= 99/9	C cont = 93/9
E= 102/9	D= 95/9	B= 72/9	A= 71/9	C cont (-) 61/9
CE = 10	CD= 9.6	CB= 10.44	CA= 11	C cont= 10.33
E= 11.33	D= 10.55	B= 8	A= 7.88	Cont (-)= 6.77
<u>C= 10.27</u>				
Factor de corrección: (FCo= C-CE,CD,CB,CA)				
CE	CD	CB	CA	
FCo= 10.27-10	10.27-9.6	10.27-10.44	10.27-11	
FCo= 0.27	FCo= 0.67	FCo= -0.17	FCo= -0.73	
VALORES CORREGIDOS: (E,D,B,A+FCo)				
E	D	B	A	
11.33+0.27	10.55+0.67	8+(-0.17)	7.88+(-0.73)	
11.6	11.22	7.83	7.15	
FECHA: 09/02/2015				
Semana de trabajo:				
SIMBOLOGÍA UTILIZADA.				
C= diámetro promedio (mm) De 48 lecturas de los halos obtenidos con la solución estándar de concentración media.				
FCo= Factor de Corrección.				
A, B, D, E= Diámetros promedio (mm) del estándar más bajos y más altos.				

Anexo A- 3 Hoja de cálculo: puntos de curva de regresión.

HOJA DE CALCULO.			
Determinación de residuo antibiótico en carne e hígado de res.			
Antibiótico de prueba: Tetraciclina Clorhidrato			
Microorganismo: Staphylococcus aureus.			
CALCULO DE DIAMETRO DE HALOS DE LA CONCENTRACION MEDIA DEL ESTÁNDAR.			
$C = \frac{10 + 9.6 + 10.44 + 11 + 10.33}{5}$ <p>C= 10.27</p>			
DIAMETRO PROMEDIO CORREGIDO PARA EL ESTÁNDAR A LAS CONCENTRACIONES E,D,B,A. [[C-Xc)+Xi]			
E	D	B	A
<u>11.33</u>	<u>10.55</u>	<u>8</u>	<u>7.88</u>
E= <u>11.6</u>	D= <u>11.22</u>	B= <u>7.83</u>	A= <u>7.15</u>
$L = \frac{3a + 2b + c - e}{5}$ $L = \frac{3(7.15) + 2(7.83) + 10.27 - 11.6}{5}$ $L = \frac{21.45 + 15.66 + 10.27 - 11.6}{5}$ $L = \frac{35.78}{5}$ <p>L= 7.156</p>		$H = \frac{3e + 2d + c - a}{5}$ $H = \frac{3(11.6) + 2(11.22 + 10.27 - 7.15)}{5}$ $H = \frac{34.8 + 22.44 + 10.27 - 7.15}{5}$ $H = \frac{60.36}{5}$ <p>H= 12.07</p>	

Cuadro de puntos a graficar

Curva 1 (<i>S. aureus</i>)		
µg/mL	5 puntos	2 puntos
0.06	7.15	7.16
0.12	7.83	12.07
0.24	10.27	
0.48	11.22	
0.96	11.6	

Figura A- 1 Curva de regresión : 2 puntos

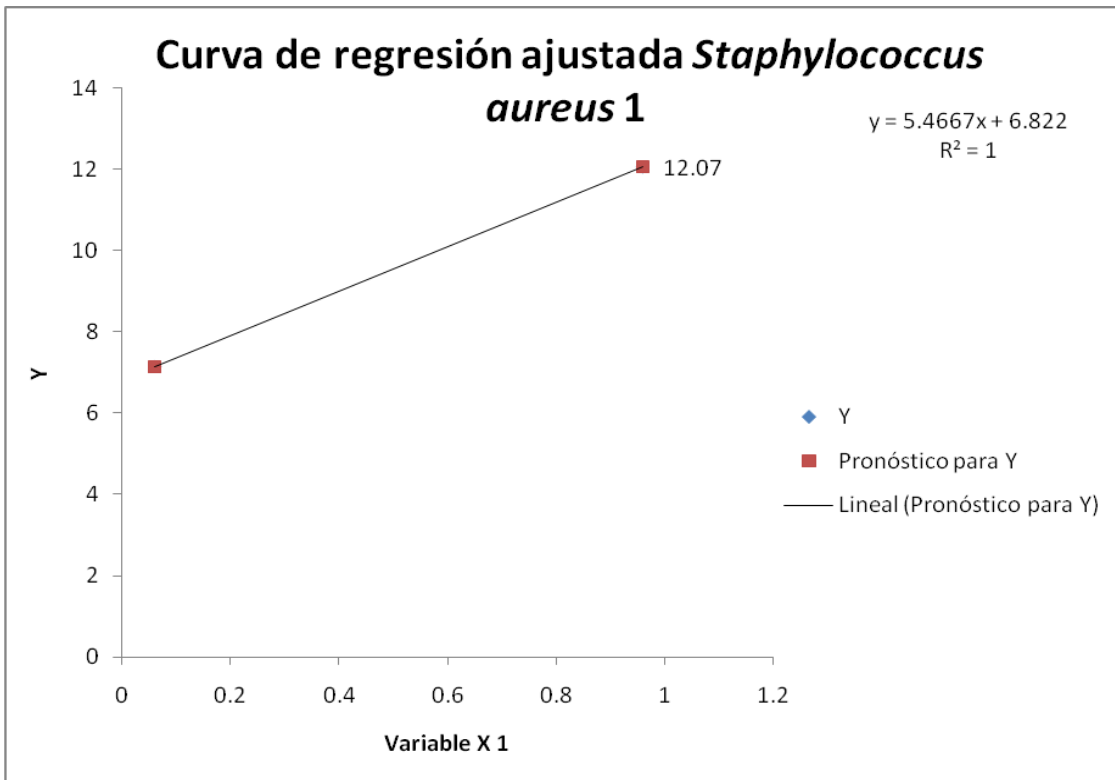
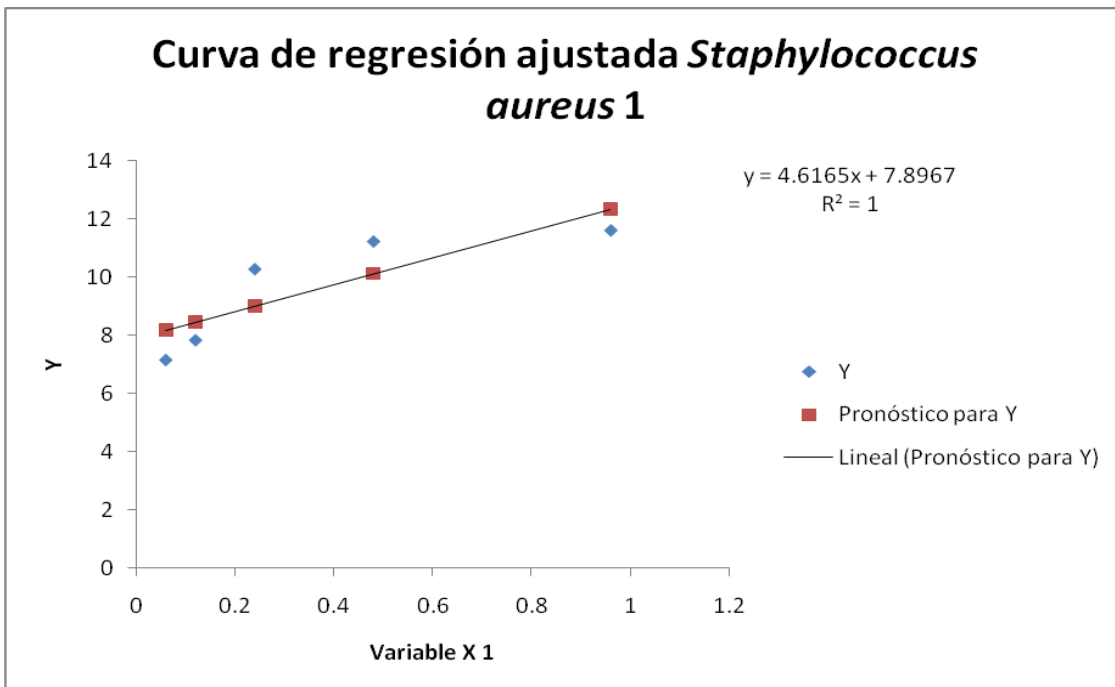


Figura A- 2 Curva de regresión: 5 puntos



Anexo A- 4 Transformación de datos

Muestra 5 Carne

$$y = 7.78 \text{ mm}$$

$$m = 5.4667$$

$$b = 6.822$$

$$x = \mu\text{g/mL}$$

$$y = mx + b$$

$$x = (y - b) / m$$

$$x = (7.78 - 6.822) / 5.4667$$

$$x = 0.17524283 \mu\text{g/mL}$$

$\mu\text{g}/25\text{mL}$

$$\mu\text{g}/25\text{mL} = (x * 25)$$

$$\mu\text{g}/25\text{mL} = 0.17524283 * 25$$

$$\mu\text{g}/25\text{mL} = 4.38107085$$

$\mu\text{g}/\text{kg}$

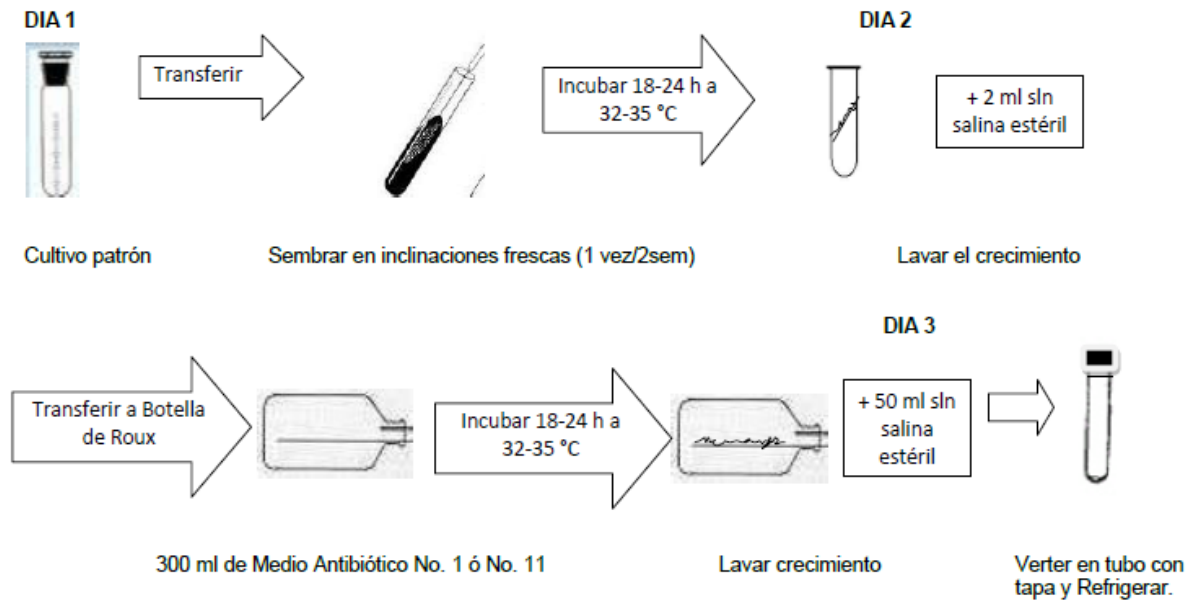
$$4.38107085 \mu\text{g}/25\text{mL} \quad \longrightarrow \quad 226.8 \text{ g}$$

$$x \quad \longleftarrow \quad 1000 \text{ g}$$

$$X = (1000\text{g} * 4.38107085) / 226.8\text{g}$$

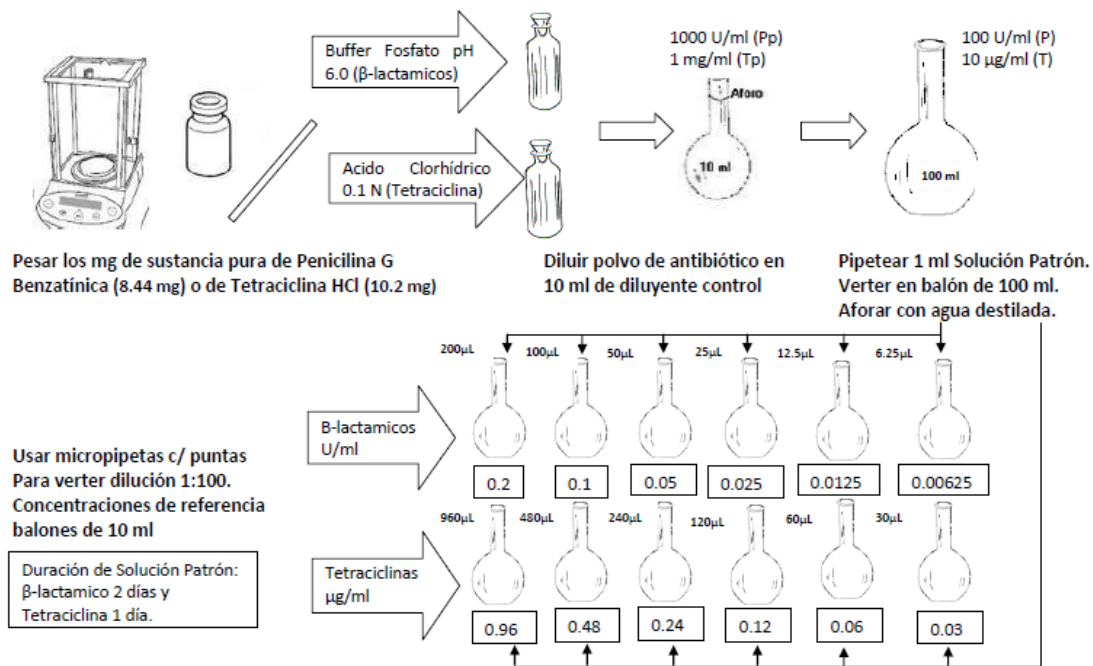
$$X = 19.3168909 \mu\text{g}/\text{kg}$$

Figura A- 3 Preparación de inóculo



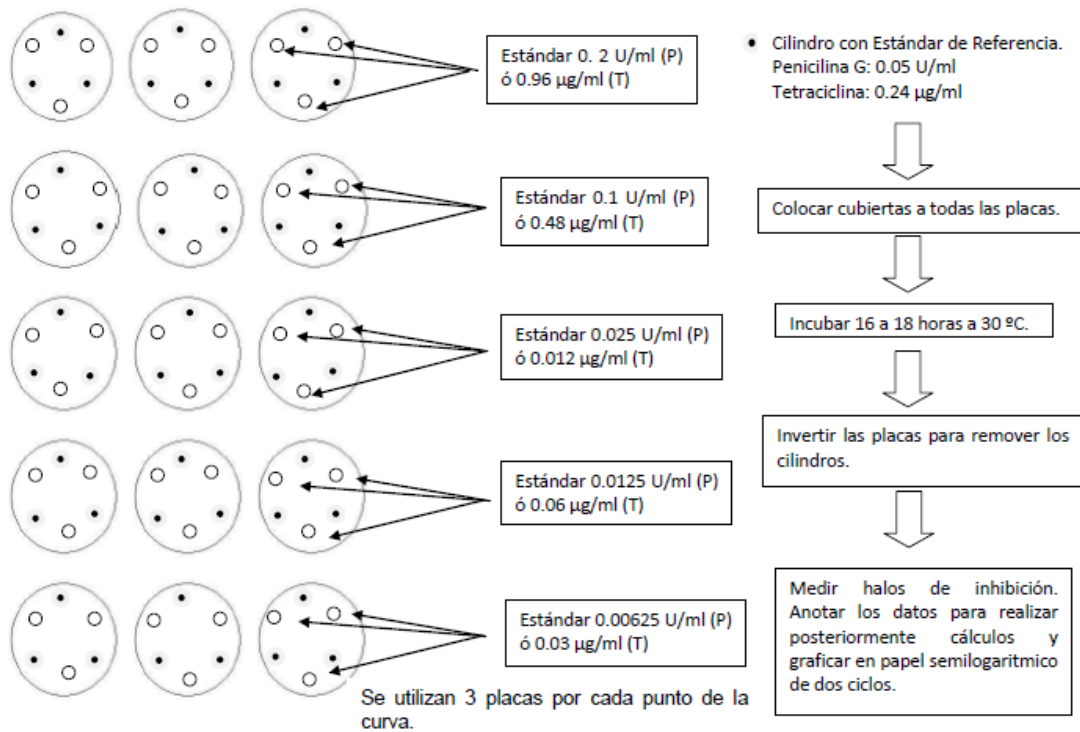
Fuente: (Barrera y Ortez, 2012)

Figura A- 4 Diluciones curva estándar



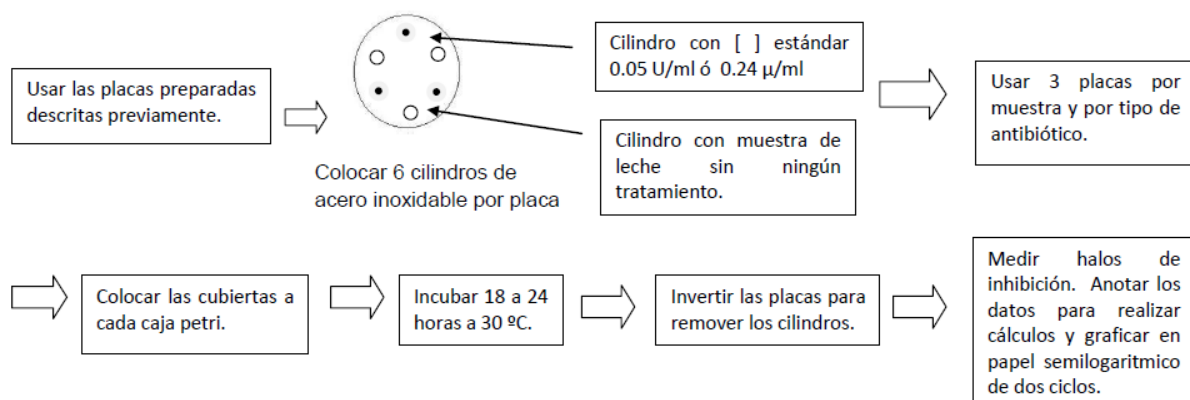
Fuente: (Barrera y Ortez, 2012)

Figura A- 5 Preparación de placas petri: curva estándar



Fuente: (Barrera y Ortez, 2012)

Figura A- 6 Preparación de placas petri: muestra



Fuente: (Barrera y Ortez, 2012)

Figura A- 7 Ubicación Rastro Municipal de Santa Ana

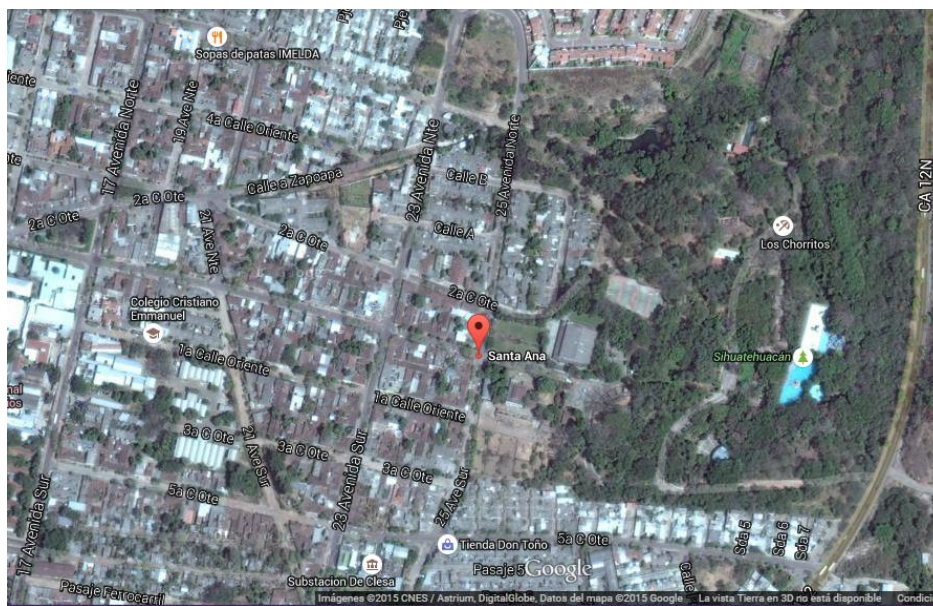


Figura A- 8 Curva estándar Tetraciclina

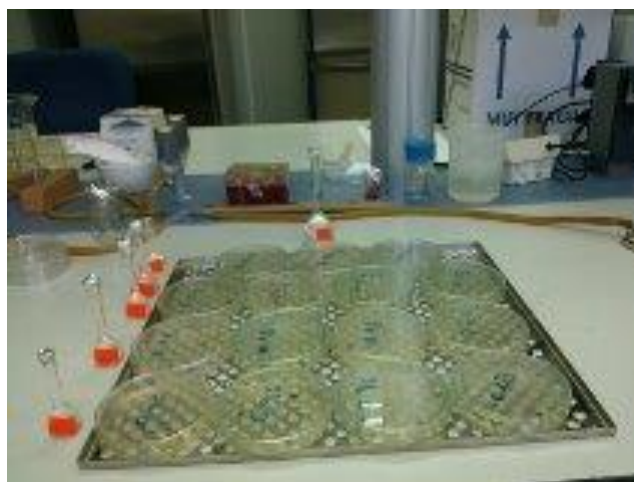


Figura A- 9 Medición de halos de inhibición



Figura A- 10 Recolección e identificación de muestra

