



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

**“DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS, SULFONAMIDAS Y
CONTROL DE CALIDAD EN LECHE CRUDA PROVENIENTES DE TRES
CANTONES DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO”**

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

AUTOR:

JUAN PABLO LOVATO VALLEJO

TRIBUNAL:

DIRECTOR: Ing. M. C. Hugo Estuardo Gavilánez Ramos.

ASESOR: Ing. M.C. Cesar Enrique Vayas Machado.

Riobamba – Ecuador

2012

Esta Tesis fue aprobada por el siguiente Tribunal

Ing. M.C. Byron Leoncio Díaz Monroy.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. M. C. Hugo Estuardo Gavilánez Ramos.

DIRECTOR

Ing. M.C. Cesar Enrique Vayas Machado.

ASESOR

Riobamba, 05 de Junio del 2012.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por dar la gracia de estar entre vosotros y permitir que mis objetivos se cumplan a cabalidad, de la misma manera a las Autoridades Institucionales, de la Facultad, Asesores de tesis, miembros del tribunal, así mismo a los docentes que impartieron sus conocimientos sin escatimar esfuerzo y egoísmo para formar profesionales competitivos frente al mundo globalizado, no podía dejar pasar por alto agradecer a los empleados, trabajadores y obreros quienes nos apoyaron en todo momento de nuestra formación; a todos mis compañeros con quienes hemos compartido un periodo académico hasta cristalizar nuestros objetivos y finalmente a los nueve ganaderos de los cantones Chambo, Riobamba y Guano quienes facilitaron la factibilidad de mi trabajo de investigación.

Juan Pablo

DEDICATORIA

El esfuerzo y sacrificio de un periodo académico hasta concluir con esta investigación, dedico a quienes me dieron la luz de día, a su vez se sacrificaron hasta verme formado profesionalmente y pueda ser útil en la sociedad (mis queridos padres), de la misma manera a quien me apoyado permanentemente en todos los momentos (mi amada esposa), así mismo a mis adorables hijos quienes me inspiran ser cada vez más competitivo, no podía olvidarme de dedicar el fruto de este trabajo a mis hermanos, primos, tíos y demás familiares los cuales de alguna manera me dieron fortaleza para concluir con mis estudios hasta llegar a la meta.

Juan Pablo

CONTENIDO

	Pág.
Resumen	v
Abstract	vi
Lista de Cuadros	vii
Lista de Gráficos	viii
Lista de Anexos	ix
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
II. <u>REVISION DE LITERATURA</u>	3
A. COMPOSICIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE	3
B. PASTEURIZACIÓN DE LA LECHE	4
1. <u>Leche entera</u>	5
2. <u>Leche modificada</u>	5
3. <u>Leche en polvo</u>	6
4. <u>Leche condensada</u>	6
C. RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS EN LA LECHE E IMPACTO SOBRE LA SALUD HUMANA	6
1. <u>Malas prácticas veterinarias al utilizar antibióticos y sulfonamidas</u>	7
2. <u>Metabolismo de los antibióticos y sulfonamidas en el organismo animal</u>	8
a. Absorción	9
b. Distribución	10
c. Biotransformación	11
d. Excreción	11
e. Consideraciones farmacocinéticas	12
3. <u>Salud humana e imagen de productos lácteos</u>	12
D. NORMAS DE LEGISLACIÓN SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHE	15
1. <u>Norma Técnica Ecuatoriana para la Leche</u>	15
a. Requisitos específicos	15
b. Requisitos físicos y químicos	15
c. Requisitos microbiológicos	16
d. Requisitos organolépticos	18
E. COPAN MILK TEST	18
1. <u>Descripción y principio del test</u>	18
F. CARGA BACTERIANA EN LA LECHE	21

1.	<u>Coliformes</u>	21
2.	<u>Aerobios</u>	22
G.	MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE CARGA BACTERIANA	23
1.	<u>Placas Petrifilm</u>	24
2.	<u>Beneficios del uso de placas Petrifilm para evaluación de la carga bacteriana en la leche</u>	25
a.	Productividad	25
b.	Estandarización de Metodologías	25
c.	Detección Rápida	25
d.	Verificación HACCP	26
H.	LOS RESIDUOS MEDICAMENTOSOS, INHIBIDORES DE PROCESOS INDUSTRIALES	26
1.	<u>Los residuos medicamentosos</u>	26
2.	<u>Inhibición de los procesos industriales</u>	28
3.	<u>Problemas en las empresas lácteas</u>	30
III.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	31
A.	LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	31
B.	UNIDADES EXPERIMENTALES	31
C.	MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES	32
1.	<u>Para registrar la información</u>	32
2.	<u>Muestreo de leche</u>	32
3.	<u>Determinación de antibiótico y sulfonamidas</u>	32
a.	Materiales	32
b.	Equipos	33
c.	Reactivo	33
4.	Determinación de características físicas de la leche	33
D.	TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	33
E.	MEDICIONES EXPERIMENTALES	34
F.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA	35
G.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	35
1.	<u>Recopilación de muestras</u>	35
2.	<u>Manejo de las muestras</u>	36
H.	METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN	36

1. <u>Determinación de las procedencias de la leche en la provincia de Chimborazo</u>	36
2. <u>Análisis de Laboratorio</u>	36
a. Determinación de antibióticos y sulfonamidas	36
b. Determinación Aerobios Mesófilos y Coliformes Totales	37
3. <u>Formulación alternativas para enfrentar el problema</u>	37
4. <u>Análisis físico de la leche</u>	37
5. <u>Análisis organoléptico de la leche</u>	38
IV. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	39
A. PRESENCIA DE RESIDUOS	39
1. <u>Antibióticos y sulfonamidas</u>	39
B. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO	43
1. <u>pH</u>	43
2. <u>Densidad</u>	45
C. PRESENCIA DE MICROORGANISMOS	46
1. <u>Coliformes totales UFC/g</u>	46
2. <u>Aerobios mesófilos UFC/g</u>	47
D. ANÁLISIS SENSORIAL DE LA LECHE	48
1. <u>Color (puntos)</u>	48
2. <u>Olor (puntos)</u>	48
3. <u>Sabor (puntos)</u>	50
4. <u>Aceptabilidad (puntos)</u>	50
5. <u>Características organolépticas totales (puntos)</u>	51
E. PRECIO DE LA LECHE	52
1. <u>El precio de la leche</u>	52
V. <u>CONCLUSIONES</u>	53
VI. <u>RECOMENDACIONES</u>	54
VII. <u>LITERATURA CITADA</u>	55
ANEXOS	

RESUMEN

La determinación de residuos de antibióticos sulfonamidas y control de calidad en leche cruda se realizó en TRES ganaderías de tres cantones (Chambo, Riobamba y Guano), de la provincia de Chimborazo para lo cual se utilizó un Diseño Cuadrado Latino encontrándose presencia de antibióticos y sulfonamidas en las ganaderías de Riobamba y Guano en el mes de diciembre (33 y 67 %), en el mes de enero en cambio se presentó en las ganaderías de Riobamba y Chambo (67% en cada una), y en el mes de febrero en las ganaderías de Chambo y Guano 33 % en cada una, en cuanto a las características físicas químicas se determinó 6.46 de pH y 1.03 de densidad, la presencia de aerobios mesofilos y coliformes fecales fue evidente en un alto contenido de 7.71×10^4 a 1.07×10^5 , y en lo referente al color, olor, sabor y aceptabilidad se registró valores de 4.22, 3.70, 3.64 y 3.57 puntos acumulando un total de 15.13/20, concluyéndose que La presencia de antibióticos y sulfonamidas en la leche cruda en los meses de diciembre, enero y en febrero fue evidente, en general no influye estos residuos farmacológicos en la aceptabilidad de la leche.

ABSTRACT

The determination of antibiotic sulfonamide residues and raw milk quality control was carried out in THREE cattle farms of three cantons (Chambo, Riobamba and Guano) of the Chimborazo province; for this a Latin Square Design was used, finding the presence of antibiotics and sulfonamides in the cattle farms of Riobamba and Guano in December (33 and 67%), while in January they were present in the cattle farms of Riobamba and Chambo (67% in each) and in February in the cattle farms of Chambo and Guano, 33% in each; as to the physical and chemical features 6.46 pH and 1.03 density were determined; the presence of mesophyll aerobes and fecal coliforms was evident in a high content of 7.71×10^4 to 1.07×10^5 ; as to the color, odor, flavor and acceptance values of 4.22, 3.70, 3.64 and 3.54 points were recorded accumulating a total of 15.13/20; it is concluded that the presence of antibiotics and sulfonamides in the raw milk in December, January and February was evident; in general these pharmacological residues do not influence on the milk acceptance.

LISTA DE CUADROS

Nº	Pág.
1. REQUISITOS FÍSICOS Y QUÍMICOS PARA LA LECHE PASTEURIZADA.	16
2. REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA LA LECHE PASTEURIZADA	17
3. REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA LA LECHE PASTEURIZADA PARA LA ACEPTACIÓN DE LOTES	17
4. LÍMITES DE DETECCIÓN DEL CMT - COPAN MILK TEST	20
5. CONDICIONES METEOROLÓGICAS PROMEDIO DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO.	31
6. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.	34
7. ESQUEMA DEL ADEVA.	35
8. RESULTADOS EXPERIMENTAL DE LA LECHE DE DIFERENTES GANADERÍAS SEGÚN PROCEDENCIAS.	40
9. RESULTADOS EXPERIMENTAL DE LA LECHE RECEPTADO EN DIFERENTES HORAS DE DIFERENTES PROCEDENCIAS.	41
10. RESULTADOS EXPERIMENTAL DE LA LECHE DE DIFERENTES GANADERÍAS SEGÚN PROCEDENCIAS.	42

LISTA DE GRÁFICOS

Nº	Pág.
1. Presencia de antibióticos y sulfonamidas en la leche recopiladas a tres horas, de tres ganaderías en tres cantones.	43
2. pH de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.	44
3. Densidad de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.	45
4. Coliformes totales en la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.	46
5. Aerobios mesófilos en la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.	47
6. Color de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.	49
7. Olor de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.	49
8. Sabor de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.	50
9. Aceptabilidad de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.	51
10. Características organolépticas totales de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.	51
11. Características organolépticas totales de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.	52

LISTA DE ANEXOS

Nº

- 1 Antibióticos y sulfonamidas Diciembre de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 2 Antibióticos y sulfonamidas Enero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 3 Antibióticos y sulfonamidas febrero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 4 pH de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 5 Densidad de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 6 Aerobios Mesófilos UFC/g Diciembre de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 7 Aerobios Mesófilos UFC/g Enero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 8 Aerobios Mesófilos UFC/g Febrero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 9 Coliformes totales UFC/g diciembre de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 10 Coliformes totales UFC/g Enero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 11 Coliformes totales UFC/g Febrero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 12 Color (puntos), de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 13 Olor (puntos), de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 14 Sabor (puntos), de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 15 Aceptabilidad (puntos), de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 16 Total (puntos), de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.
- 17 Precio leche de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

I. INTRODUCCIÓN

Los ganaderos prósperos con la finalidad de disponer de animales completamente sanos, acuden con frecuencia a los almacenes veterinarios con la finalidad de evitar la presencia de enfermedades, de esta manera evitar problemas de salud, más aún cuando sus animales se encuentran enfermos, estos ganaderos invierten su capital en una gran cantidad de fármacos para evitar que el o los animales se mueran.

La presencia de enfermedades ha sido una de las causas para utilizar medicamentos de todos los tipos como los antihelmínticos, antibióticos, bacterinas, vacunas entre otros, los mismos que se administran por diferentes vías las cuales son eliminadas en forma de residuos ya sea en las excretas y cuando los animales están en producción se eliminan a través de la producción lechera, los cuales causan daño a los consumidores.

En las ganaderías lecheras ecuatorianas frecuentemente realizan el uso indiscriminado de medicamentos, siendo notorio puesto que la presencia de veterinarios hacen que se use con mayor frecuencia medicamentos debido a que ellos viven de la comercialización de estos fármacos sin considerar los efectos que produce la exagerada aplicación de estos en el producto final, principalmente de los consumidores.

A este problema se incluye la ineficacia de organismos de control a nivel de expendio y uso de fármacos, en las plantas procesadoras de leche y/o zonas de expendio al consumidor final. En forma general se puede afirmar que los controles en las plantas de acopio o procesamiento de leche se centran en la medición del porcentaje de grasa y de la acides del lote examinado dejando de lado otros parámetros importantes para salvaguardar la calidad del producto.

La acción del zootecnista, es velar por la calidad del producto final (leche), que debe ser consumido por la demanda, ejerciendo control de calidad desde las ganaderías hasta en las plantas industrializadoras de leche, para evitar que sustancias adicionales a la leche como: antibióticos, sulfonamidas y otros se

incorporen a los alimentos que son consumidos por la sociedad, de esta manera creando conciencia en los productores e industriales de leche, puesto que como consecuencias se causa daños a los que expone a la población.

En los últimos años la producción de leche en nuestro país ha crecido representativamente a pesar de que parte de los ganaderos cambiaron de propósito, este crecimiento se debe a que en ganaderías prosperas han mejorado la genética de sus animales, haciendo más eficientes puesto que la demanda de productos y subproductos lácteos existente sigue creciendo permanentemente.

La presente investigación que explora la presencia de antibióticos y sulfonamidas residuales en la leche se identificarán en tres Cantones de la provincia de Chimborazo con la finalidad de identificar y conocer las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas en la leche cruda, la misma que no solamente garantiza un producto de calidad y aceptabilidad del producto en el mercado, sino que va a garantizar a que las industrias lácteas, principalmente las que elaboran leches fermentadas como yogurt, queso y otros derivados lácteos garantice el rendimiento económico y productivo, puesto que una leche con residuos de antibiótico difícilmente va a producir yogur debido a su efecto bactericida.

Por lo mencionado anteriormente se plantea los siguientes objetivos:

- Muestrear e investigar la presencia de residuos de antibióticos, sulfonamidas y calidad de leche cruda de las ganaderías.
- Identificar la presencia de microorganismos patógenos en la leche cruda.
- Evaluar la aceptabilidad y costos de la leche proveniente de las ganaderías de tres Cantones de la Provincia de Chimborazo mediante el análisis sensorial.

II. REVISION DE LITERATURA

A. COMPOSICIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE

Se entiende como leche al producto integral del ordeño total e ininterrumpido, la leche es un producto universal de origen animal que por su alto valor nutritivo y alto grado de digestibilidad es de suma importancia en la alimentación humana, está compuesta por Agua 87%, Lactosa 4.9%, Caseína 2.9%, Alfa lactoalbúmina 0.5%, Beta lactoalbúmina 0.2%, Grasa neutra 3.7%, Fosfolípidos 0.1%, Acido cítrico 0.2%. Por esta razón el control higiénico – sanitario debe ser realizado en forma estricta por los organismos competentes, debido a que la leche es un excelente medio de cultivo para numerosos microorganismos por su elevado contenido en agua, su pH casi neutro y su riqueza en alimentos microbianos. Posee una gran cantidad de alimentos energéticos en forma de azúcares (lactosa), grasa y citrato, y compuestos nitrogenados.

Los minerales presentes en la leche son los siguientes: Potasio, Calcio, Sodio, Cloro, Magnesio, Fósforo, Hierro y Azufre. La distribución normal de células en la leche debe ser no más del 5% de neutrófilos y células epiteliales respectivamente, 75% de macrófagos y 15% de linfocitos.

Por poseer azúcares fermentescibles, en condiciones ordinarias lo que más frecuentemente ocurre es una fermentación ácida a cargo de las bacterias; si no existen gérmenes formadores de ácido o si las condiciones son desfavorables para su actividad, pueden sufrir otros tipos de alteración (Frazier, W. 1999).

La leche de alta calidad debe poseer las siguientes características:

- Estar libre de todo organismo patógeno.
- Estar libre de sedimentos y materias totales.
- Tener un ligero sabor dulce, un gusto y aroma suave, estar libre de olores extraños.
- Cumplir con los requisitos estatales (Judkins, N. et al., 1994).

Los hábitos de consumo cotidiano van a estribar el riesgo constante de la población de adquirir la leche fresca o sus derivados contaminados con residuos de antibióticos.

Ello conlleva a la imperiosa necesidad de efectuar muestras continuas que faciliten su detección e impedir la comercialización del producto, en vista de que estos fármacos no se metabolizan en su totalidad, ni se inactiva con la industrialización (Benzunce, L. 1998).

B. PASTEURIZACIÓN DE LA LECHE

Veisseyre, R. (1997), menciona que tras muchos años de ensayos y experimentación se ha visto que el tratamiento térmico conocido con el nombre de pasteurización es el más satisfactorio ya que produce menos alteraciones en la composición, sabor y presentación de la leche.

En lo que se refiere a la higiene, un tratamiento térmico eficaz no es necesariamente el que destruye todos los microbios existentes si no el que se limita a eliminar los gérmenes patógenos, que afortunadamente son sin excepción bastantes sensibles al calor. Cualquiera que sea el método de tratamiento térmico utilizado y las dimensiones de la instalación, la pasteurización plantea cuatro problemas fundamentales desde el punto de vista técnico.

- Conseguir una leche cruda exenta en todo lo posible de contaminación.
- Destruir todos los agentes patógenos y el mayor número posible de microorganismos fermentadores resistentes al calor, que pueda existir en ella sin que se altere el sabor y el valor nutritivo de la leche.
- Evitar que la leche tratada vuelva a contaminarse con gérmenes patógenos o fermentadores.
- Evitar que durante la distribución de la leche tratada (pasteurizada), hacia el consumidor se prolifere al menos un pequeño número de microorganismos fermentadores que pueden sobrevivir a la pasteurización.

<http://www.geocities.com>.(2003), menciona a la pasteurización como un tratamiento térmico específico que es sometida la leche por un tiempo determinado con la finalidad de eliminar todos los microorganismos patógenos, la mayoría de los no patógenos e inactivar ciertas enzimas sin llegar a alterar en forma considerable su composición, mediante los siguientes métodos de pasteurización más empleados en la industria lechera.

1. Leche entera

<http://www.zonadiet.com/bebidas/leche.htm>. (2012), asegura que se entiende con éste nombre a la leche a granel higienizada, enfriada y mantenida a 5°C, sometida opcionalmente a terminación, pasteurización y/o estandarización de materia grasa, transportada en volúmenes de una industria láctea a otra para ser procesada y envasada bajo normas de higiene. La leche fluida entera puede ser sometida a procedimientos de higienización por calor. Procesos de ultra alta temperatura (UAT ó UHT), que consisten en llevar la leche homogenizada a temperaturas de 130° a 150°C durante 2 a 4 segundos , permiten higienizarla de forma apropiada y de manera que estas puedan llegar en forma segura al consumidor.

2. Leche modificada

Según <http://www.zonadiet.com/bebidas/leche.htm>. (2012), se pueden producir leches descremadas con tenor graso máximo de 0.3%, y semidescremadas cuando sea mayor a 0.3% y menor al 3%. Estos valores deberán obligatoriamente constar en los envases de forma visible y explícita. La leche parcialmente descremada, que promedia el 1.5% de grasa, aporta lo mismo que la de tipo entera, excepto por esta diferencia de contenido graso y por ende de menor cantidad de calorías. Normalmente se recomienda que toda persona mayor de 25 años consuma leche parcialmente descremada independientemente de su peso, dado que sirve como medida preventiva a la aparición de enfermedades cardiovasculares.

3. Leche en polvo

<http://m/bebidas/leche.htm>. (2012), indica que las hay enteras, semidescremadas y descremadas. A través de procesos técnicos el líquido se deshidrata y reduce a polvo. Para este proceso, la leche es introducida a gran presión en cámaras calientes que la deshidratan. Así, se forma una nube de pequeñas gotas de leche que se deshidratan instantáneamente y que se ha denominado Sistema Spray. Las propiedades de la leche en polvo son similares

4. Leche condensada

<http://www.geocities.com>. (2003), asevera que esta variedad del producto es utilizado generalmente para repostería y no para la dieta diaria, dado su alto contenido de grasa y bajo contenido de agua. La leche condensada se obtiene a partir de leche fluida a la que se le adiciona sacarosa y glucosa. Su concentración se logra al vacío y con temperaturas no muy altas. De esta forma se logra la evaporación de agua quedando como resultado un producto viscoso. Esta variedad del producto tiene un mínimo de 7% de grasa y no más de 30% de agua.

C. RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS EN LA LECHE E IMPACTO SOBRE LA SALUD HUMANA

Si bien está comprobado que los antibióticos no dañan directamente al ser humano, los científicos todavía no pueden asegurar que su consumo habitual no genere posteriormente algunas enfermedades crónicas, por lo que lo aconsejable es desde hace mucho tiempo intentar detectar cualquier posibilidad de su presencia en la leche que luego es comercializada. Si bien está comprobado que los antibióticos no dañan directamente al ser humano, los científicos todavía no pueden asegurar que su consumo habitual no genere posteriormente algunas enfermedades crónicas. Por ello, se intenta detectar su presencia en la leche antes de que sea comercializada. Hay que tener en cuenta que la existencia de los antibióticos no afecta únicamente a la leche, sino también a todos los derivados, como por ejemplo los quesos o el yogurt, cuya fermentación puede verse notablemente afectada por estos organismos. Es ahí cuando entonces sí

pueden tener una trascendencia mayor del consumo de estos antibióticos, que por otro lado parece cada vez más lejano, gracias a los avances de la tecnología.

La presencia de los antibióticos no afecta únicamente a la leche, sino también a todos sus derivados, como por ejemplo los quesos o el yogurt, cuya fermentación involucra a organismos que producen estas sustancias de graves efectos para el sistema inmunológico humano. Efectos que se reducirán gracias a los avances en la tecnología para su detección.

La contaminación de la leche, carne y huevo con diferentes fármacos como son: antibióticos, antisépticos, promotores de crecimiento, etc., es una secuela frecuente posterior al tratamiento o prevención de enfermedades que afectan a los animales de producción. Por ejemplo, se ha comentado que la presencia de residuos antibióticos en la leche, puede inducir alergias y resistencias bacterianas; a otro nivel puede afectar los procesos de industrialización de la misma. Y quizá el aspecto que más temor causa, es la incertidumbre de que aún no se sabe cuáles y que tan graves efectos tendrán los residuos de tantos fármacos ingeridos de manera crónica. Por ejemplo se ha estimado que la presentación de anemia aplásica en humanos se puede inducir con tan solo 1 ppm de cloranfenicol presente en productos de origen animal. De tal suerte existen en la mayoría de los países industrializados diversas reglamentaciones que pretenden lograr un equilibrio entre la pérdida económica para el productor y el nivel de residuos inocuos tolerables por el hombre (Ocampo, L. 2007).

1. Malas prácticas veterinarias al utilizar antibióticos y sulfonamidas

El uso de antibióticos y sulfas, sin lugar a dudas, ha sido una de las principales herramientas en el control y erradicación de numerosas enfermedades infecciosas de origen bacteriano en nuestros animales de abasto y compañía. Sin embargo su empleo requiere necesariamente la preocupación y supervisión de los Médicos Veterinarios para que no queden concentraciones de estas drogas en leche, carne y otros productos de origen animal, con el fin de que la población humana reciba un alimento de buena calidad exenta de residuos de estas drogas (Suhren, G. et al., 1996).

Las sulfonamidas son un grupo de compuestos orgánicos sintéticos, que tienen una amplia actividad antibacteriana (actúan contra gérmenes gram positivos y negativos). Su núcleo base es el ácido p-aminobenzen-sulfónico. Tienen efecto bacteriostático porque interfieren en la asimilación del ácido p-aminobenzoico, necesario para la producción del ácido fólico por las bacterias, lo que deprime la síntesis de ADN. Cuando se usan combinadas tienen efectos sinérgicos y su combinación con trimethopim es a menudo bactericida. En medicina veterinaria también se les usa combinadas con antibióticos (Sumano, H. et al., 1997).

Se usan en forma mayoritaria en el ganado productor de leche las sulfonamidas: sulfatiazol, sulfamerazina, sulfametazina, sulfamonometoxina, sulfametoxazol y sulfaclopiridazina. Se les encuentra en el mercado como mezclas de 2 a 3 de ellas, combinadas con trimethopim y en algunos casos mezclada con antibióticos.

La aplicación de estos medicamentos está indicada para casos de mastitis, infecciones respiratorias, gastrointestinales y genitourinarias. Las vías de administración pueden ser orales o inyectables. En todas las presentaciones comerciales de estos medicamentos veterinarios se indican tiempos de espera entre su aplicación a las vacas y la recolección de leche para consumo. Los tiempos fluctúan de 3 a 5 días en mezclas que sólo contienen sulfonamidas y trimethopim, y de 3 a 14 días en algunas mezclas con antibióticos. Para la detección y cuantificación de residuos de sulfonamidas en leche se emplean pruebas de seguimiento o monitoreo.

La presencia de residuos de sulfonamidas en leche ha sido informada en varios países: Costa Rica, Alemania, Italia y Estados Unidos. Sólo en las leches de Italia y Costa Rica se encontraron niveles de residuos por encima de los máximos recomendados internacionalmente (Suhren, G. et al., 1996).

2. Metabolismo de los antibióticos y sulfonamidas en el organismo animal

Existen diferencias notables entre las numerosas sulfonamidas en cuanto a sus propiedades farmacocinéticas en las distintas especies animales. La clasificación convencional en sulfonamidas de acción corta, acción inmediata y acción

prolongada empleada en terapéutica humana no suele ser apropiada en veterinaria, debido a las diferencias de distribución y eliminación entre las especies (Manual Merck. 2000).

a. Absorción

Las sulfonamidas puede administrarse por vía oral, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intrauterina o tópica, según la preparación utilizada. Salvo las sulfonamidas que apenas se absorben destinadas a uso entérico, la mayoría se absorbe con bastante rapidez y completamente a partir del tracto gastrointestinal de los animales monogástricos. La absorción a partir del retículo rumen se retrasa, especialmente si existe estasis ruminal. Las dosis terapéuticas de las sulfonamidas se administran normalmente por vía oral, excepto en el caso de infecciones agudas que supongan una amenaza para la vida, en las que se emplea infusiones intravenosas para alcanzar concentraciones sanguíneas adecuadas con la mayor rapidez posible. Las sulfonamidas se suelen añadir al agua de bebida o a los alimentos, con fines terapéuticos o para aumentar la eficacia alimentaria.

Algunas preparaciones muy hidrosolubles pueden inyectarse por vía intramuscular, como las sulfadimetoxina sódica, o intraperitoneal, aunque puede producir cierta irritación peritoneal. La absorción a partir de estos lugares parenterales es rápida. Generalmente, las absorciones de sulfonamidas son demasiado alcalinas para ser administradas sistemáticamente por vía parenteral (Manual Merck. 2000).

Las Tetraciclinas orales, se absorben principalmente en el intestino delgado superior y se alcanzan niveles sanguíneos en 2 a 4 horas. La absorción desde el tracto gastrointestinal puede verse afectada por el bicarbonato sódico, hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, hierro, sales de calcio, leche y productos lácteos. En el caso de la doxiciclina y minociclina este último solo ocurre en pequeña medida. Las tetraciclinas no deben administrarse por vía oral en dosis terapéuticas a los rumiantes, se absorben mal y pueden reducir sustancialmente la actividad de la flora ruminal. Se puede administrar por vía intramuscular e

intravenosa soluciones de tetraciclina especialmente tamponadas. Puede retrasarse la absorción de oxitetraciclina desde los lugares de inyección intramuscular mediante manipulación química, especialmente por la elección del portador y por un contenido elevado de magnesio, lo que hace que su efecto sea prolongado. Las tetraciclinas pueden provocar necrosis tisular en los lugares de inyección, donde los residuos pueden permanecer por varias semanas. Las tetraciclinas también pueden absorberse desde el útero y la ubre aunque las concentraciones plasmáticas alcanzadas son bajas (Sumano, H. et al., 1997).

La mayoría de Betalactámicos en solución acuosa se absorben rápidamente a partir de los lugares de inyección parenteral. La absorción se retrasa cuando las sales inorgánicas de Penicilina están en suspensión en excipientes oleosos vegetales, o cuando las sales orgánicas de depósito poco solubles, como la penicilina G procaína y la penicilina G benzatina, se administran por vía parenteral (Manual Merck. 2000).

b. Distribución

Según el Manual Merck. (2000), las sulfonamidas se distribuyen en todos los tejidos corporales; el patrón de distribución depende del estado de ionización de las sulfonamidas, la vascularidad de cada tejido, la presencia de barreras específicas a la difusión de la sulfonamida, y la fracción de la dosis administrada que se une a proteínas plasmáticas. La fracción de fármaco no unido difunde libremente. Las sulfonamidas se une a las proteínas plasmáticas en mayor o menor medida, y su concentración en los líquidos pleural, peritoneal, sinovial y ocular pueden ser un 50 – 90% de la sanguínea. La sulfadiazina ésta unida a proteínas plasmáticas en al menos un 90%. las concentraciones en los riñones son superiores a las plasmáticas, mientras las de la piel, hígado y pulmones son ligeramente inferiores. Las concentraciones en músculo y hueso son – 50% de las plasmáticas, y las del LCR pueden variar entre un 20 y 80% respecto a las concentraciones sanguíneas, según la sulfonamida de que se trate. En el tejido adiposo se obtienen concentraciones reducidas. Tras su administración parenteral, la sulfametacina se encuentra en el interior del yeyuno y colon aproximadamente en la misma concentración que en la sangre.

c. Biotransformación

En el Manual Merck. (2000), se reporta que las sulfonamidas suelen metabolizarse en gran medida, principalmente a través de distintas vías oxidativas, acetilación y conjugación con sulfatos o con ácido glucorónico. Existen diferencias notables entre las especies a este respecto. Las formas acetiladas, hidroxiladas y conjugadas tienen poca actividad antibacteriana. La acetilación, escasa en el perro, reduce la solubilidad de la mayoría de las sulfonamidas, a excepción del grupo de la sulfapirimidina.

d. Excreción

De la misma manera se puede mencionar que las sulfonamidas se excretan principalmente en la orina, la bilis, heces, leche y sudor constituyen vías de excreción de menor importancia. Entre los principales procesos implicados están la filtración glomerular, la secreción tubular activa y la resorción tubular. La proporción resorbida depende de la liposolubilidad inherente de cada sulfonamida y de sus metabolitos, así como del pH urinario, el aclaramiento renal y la concentración y solubilidad de cada sulfonamida y sus metabolitos determinan si se excede su solubilidad y precipitan en forma de cristales. Esto puede evitarse alcalinizando la orina, aumentando el consumo de líquidos, reduciendo las dosis en la insuficiencia renal y usando combinaciones triples de sulfonamidas, o combinaciones de sulfonamidas con diaminopirimidina (Manual Merck. 2000).

Las tetraciclinas se excretan a través de los riñones por filtración glomerular y en tracto digestivo por eliminación biliar y directamente reporta Sumano, H. et al., (1997). En general se recupera en orina entre el 50 y 80% de la dosis administrada, aunque en la eliminación renal pueden influir varios factores entre ellos se encuentran la edad, la vía de administración, el pH urinario, la tasa de filtración glomerular, la enfermedad renal y la tetraciclina específica utilizada. La eliminación intestinal biliar es siempre significativa, generalmente 10 y 20%, incluso tras administración parenteral; en el caso de la doxiciclina y sus metabolitos, ésta es la principal vía de excreción. Las tetraciclinas también se eliminan en la leche; se alcanzan concentraciones máximas a las 6 horas de la

administración parenteral; y se detectan pequeñas cantidades hasta 48 horas después.

Según el Manual Merck. (2000), la mayor parte de los betalactámicos administrados por vía parenteral entre un 60 y 90%, se eliminan en la orina al poco tiempo. Las penicilinas también se eliminan en la leche, aunque por lo general en cantidades ínfimas en la ubre normal, y puede persistir hasta 90 horas. También se han observado residuos de penicilinas en la leche tras la intrauterina.

e. Consideraciones farmacocinéticas

En la revista Technical Management Communications. (1991), reporta que hay grandes diferencias entre las propiedades farmacocinéticas de las distintas sulfonamidas en los animales, y la extrapolación de estos valores no suele ser correcta. Por ejemplo, la semivida plasmática de la sulfadiacina es de 10.1 h en el ganado bovino y de 2.9 h en los cerdos. Las dosis y las frecuencias recomendadas reflejan esta disparidad en los parámetros cinéticos de eliminación (Manual Merck. 2000).

El nivel y la duración de la infusión de antibióticos en la leche depende de factores, como la presentación (solución acuosa, pomada, preparación de acción prolongada), y el tipo de administración (vía intramamaria, intrauterina e intramuscular).

3. Salud humana e imagen de productos lácteos

Según <http://www.tecnovet.u.html>. (2006), la presencia de Antibióticos es un serio problema para la industria, porque afecta el desarrollo de los procesos de fabricación de quesos y yogures, y por qué los residuos de antibióticos en los productos son severamente vigilados por los países compradores, y son causa de rechazo de las partidas y pérdida de prestigio del sector lechero del país

Al eliminarse parte de los fármacos a través de las secreciones, los riesgos de los residuos de antibióticos en la leche sobre la población humana se centran

fundamentalmente en los siguientes aspectos: reacciones de hipersensibilidad, efectos tóxicos específicos, aparición de cepas resistentes y susceptibles de ser transmitidas al hombre y alteraciones de la flora intestinal. La mayor información sobre reacciones de hipersensibilidad se refiere a las penicilinas naturales y semi-sintéticas, pues son los antibióticos de mayor uso tanto en medicina humana como en medicina veterinaria. Se estima que alrededor de un 4 a un 7% de la población es hipersensible a la penicilina y basta que la persona entre en contacto con pequeñas concentraciones de este antibiótico, para manifestar reacciones que pueden ir desde una simple erupción en la piel, cursar con cuadros febriles, llegando incluso a provocar shock anafiláctico. En relación a los efectos tóxicos específicos es interesante mencionar al cloranfenicol, ésta constituye una de las drogas que mayor riesgo tiene de provocar anemia plástica en el hombre, razón por la cual países de gran desarrollo lechero como son la Comunidad Europea, Canadá y los Estados Unidos de América, prohíben su administración por cualquier vía en animales de abasto.

Se conoce que la microflora intestinal del hombre se ve afectada cuando recibe terapias orales prolongadas con estos fármacos. Sin embargo, también se postula que estas alteraciones pueden ocurrir con el suministro de concentraciones pequeñas de antibióticos o sulfas, razón por la cual son numerosas las investigaciones dedicadas a detectar los efectos adversos sobre la microflora intestinal provocada por el suministro de concentraciones residuales de estas drogas. En base a la resistencia bacteriana, fenómeno de ocurrencia frecuente en medicina, ésta podría ser originada por el consumo constante de leche con concentraciones bajas de antibióticos, los cuales suprimen el desarrollo de las bacterias más sensibles, facilitando la proliferación de las más resistentes. Al respecto, es interesante mencionar un memorando de la Organización Mundial de la Salud, el cual recomienda restringir el uso de antibióticos de primera línea de elección en medicina humana en animales de abasto.

Los efectos posibles sobre la salud humana de los diferentes residuos medicamentosos es una amenaza de degradación de la imagen de los productos lácteos, por ejemplo el riesgo de alergias provocadas por residuos de antibióticos tal es el caso de Penicilinas y tetraciclinas en particular. El consumidor quiere

que los productos alimenticios presenten un máximo de seguridad y debe estar exento de microorganismos patógenos, residuos químicos y de toda sustancia nueva que no conocemos los efectos a largo plazo. Los riesgos alimenticios son causas de accidentes, ignorancia, inconciencia, no conocimiento de reglas o leyes, de insuficiente información o de información en abuso.

Los productos lácteos son relegados defecto de su imagen que presenten: Producto natural, sano, noble. La pérdida de confianza concierne a los productos pero también se extiende a la condición de producción en la granja. Todo la hilera es consternada el declive difícilmente es recuperable. Los progresos científicos permiten la utilización de nuevos productos creando un interés evidente pero que ocasionalmente pueden ser causa de problemas a lo posterior. La Ivermectina en micro dosis utilizada para la derogación en Francia sobre vacas en lactancia y sistemáticamente sobre hatos es un ejemplo (Baraton, Y. 2006). La relación existente entre el *Helicobacter pylori* y el cáncer gástrico, fue propuesta con las publicaciones de Scot, Landsdown y Diament en la famosa revista Lancet, en 1990, y la de Parsonet y colaboradores, un año después, en la revista del National Cancer Institute. En 1993, en el congreso sobre *H. pylori* llevado a cabo en Florida, se aceptó que la bacteria efectivamente genera gastritis crónica. Hoy la Federación Internacional de Medicamentos reconoce que tener la bacteria aumenta en 12 veces la probabilidad de morir de cáncer gástrico. La aceptación de la etiología infecciosa de la gastritis dio inicio a una nueva forma de tratar el padecimiento: con antibióticos. A partir de entonces, se comenzó a recomendar este tipo de tratamientos sin embargo gran parte de los casos resultó un fracaso completo debido a la gran resistencia de la bacteria a los antibióticos. Buscando la explicación de tal fracaso se descubrió que la resistencia de la bacteria al tratamiento puede ser producida por los antibióticos residuales en la leche bovina, al determinarse niveles de antibiótico superiores a los aceptados para el consumo humano (Vatier, J. et al., 1996).

Robinson, M. (1997), menciona que la temperatura, duración del almacenamiento, la tasa, el tipo de las bacterias presentes y, en menor medida, los sistemas de inhibición naturales de la leche, influyen en la multiplicación de las bacterias en la leche almacenada. Debido a la amplia variación de la flora inicial y a las

condiciones bajo las cuales se almacena la leche, sólo pueden hacerse ciertas generalizaciones acerca de los cambios de la microflora de la leche en las centrales durante el transporte y almacenamiento de la secreción láctea.

D. NORMAS DE LEGISLACIÓN SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHE

1. Norma Técnica Ecuatoriana para la Leche

Según las Normas Técnicas Ecuatorianas para la Leche Pasteurizada INEN 2003, debe cumplir con los siguientes requisitos.

a. Requisitos específicos

- La leche pasteurizada debe presentar características organolépticas normales, estar limpia y libre de calostro, conservantes, neutralizantes y adulterantes.
- No debe ser vendida al público en fecha posterior a la que aparece marcada en el rótulo del envase (no más de 72 horas después de su pasteurización).
- La leche pasteurizada, opcionalmente puede ser adicionada vitaminas a no menos de 2000 UI/L y vitamina D 400 UI/L, dentro de los límites de buenas prácticas de manufactura.

b. Requisitos físicos y químicos

Los requisitos físicos y químicos para la leche pasteurizada se observa en el cuadro 1.

Cuadro 1. REQUISITOS FÍSICOS Y QUÍMICOS PARA LA LECHE PASTEURIZADA.

Requisitos	Unidad	Entera		Semidescremada		Descremada	
		Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Densidad	-	1.029	1.032	1.030	1.033	1.031	1.034
Grasa	% m/m	3.0	-	>1.0	< 3.0	-	>1.0
Acidez titulable (Ac. Láctico)	% m/v	0.13	0.16	0.14	0.17	0.14	0.18
Sólidos Totales	% m/m	11.30	-	9.20	-	8.30	-
Sólidos No Grasos	% m/m	8.30	-	8.20	-	8.20	-
Ceniza	% m/m	0.65	0.80	0.70	0.80	0.70	0.80
Proteína	% m/m	2.9	-	2.9	-	2.9	-
Conservantes	-	Negativo		Negativo		Negativo	
Neutralizantes	-	Negativo		Negativo		Negativo	
Adulterantes	-	Negativo		Negativo		Negativo	
Antibióticos							
Betalactámicos	ug/L	-	5	-	5	-	5
Tetraciclínicos	ug/L	-	100	-	100	-	100
Sulfonamidas	ug/L	-	100	-	100	-	100

Conservantes: Formaldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas.

Neutralizantes: Orina bovina, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.

Adulterante: Harina, almidones, soluciones azucaradas, soluciones salinas.

Fuente: Normas Técnicas Ecuatorianas. Leche Pasteurizada. INEN. (2003).

c. Requisitos microbiológicos

La leche pasteurizada envasada de acuerdo con las NTE INEN correspondientes, deberá cumplir con las especificaciones establecidas en el cuadro 2.

Cuadro 2. REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA LA LECHE PASTEURIZADA.

REQUISITOS	LÍMITE MÁXIMO
Recuento Total de Aerobios Mesófilos REP UFC/cm ³	3.0 x 10 ⁴
Coliformes Totales NMP/cm ³	3.6 x 10 ⁰
Coliformes Totales REP UFC/ cm ³	5.0 x 10 ⁰
Coliformes totales y Escherichia Coli NMP/cm ³	< 3.0 x 10 ⁰⁺

Fuente: Norma Técnica Ecuatoriana 1529. (2003).

Para la aceptación de lotes, deberá sujetarse a los requisitos microbiológicos señalados en el cuadro 3.

Cuadro 3. REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA LA LECHE PASTEURIZADA PARA LA ACEPTACIÓN DE LOTES.

REQUISITOS	N	C	m	M
Recuento Total de Aerobios Mesófilos REP UFC/cm ³	5	2	3.0x10 ⁴	1.0x10 ⁵
Coliformes Totales NMP/cm ³	5	1	3.6x10 ⁰	2.3x10 ¹
Coliformes Totales REP UFC/ cm ³	5	1	5.0x10 ⁰	5.0x10 ¹
Coliformes totales y Escherichia Coli NMP/cm ³	5	0	<3x10 ⁰ +	-

<3x10⁰, significa que no existirá ningún tubo positivo en la técnica NMP con tres tubos.

N = número de muestras del lote que debe analizarse.

c = número de muestras defectuosas aceptables, que pueden encontrarse dentro del rango m y M.

m = límite de aceptación.

M = límite de rechazo.

Fuente: Norma Técnica Ecuatoriana 1529. Leche Pasteurizada. INEN. (2003).

La leche pasteurizada deberá evidenciar ausencia de microorganismos patógenos.

d. Requisitos organolépticos

La leche pasteurizada deberá cumplir con los siguientes requisitos organolépticos:

- Color. Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.
- Olor. Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.
- Aspecto. Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.

E. COPAN MILK TEST

1. Descripción y principio del test

El Copan Milk Test, está disponible como una prueba simple que puede usarse para analizar la leche simple en menor escala al nivel de la granja.

Puede usarse para el descubrimiento de residuos antimicrobiales en la leche de las vacas, cabras y ovejas que incluyen leche cruda, leche pasteurizada y ultra pasteurizada y polvo de leche. La prueba se proporciona en los tubos individuales llenos de un agar medio.

El agar es pre-sembrado con esporas de Bacilos: *Stearothermophilus*, Variedad: *calidolactis* incorporando un azúcar fermentable: la glucosa y un pH indicador: Bromocresol Púrpura.

La prueba está lista para su uso, sin la necesidad de activar el producto agregando un nutriente. El operador simplemente añade 100 uL de muestra de leche directamente hacia la superficie del agar y entonces se procede a la incubación a 64 °C, por un lapso prescrito de tiempo. La leche rápidamente se distribuye sobre todo el agar medio.

Si no hay ninguna sustancia del antimicrobial en la leche o su concentración está por debajo de los límites de detección. Las esporas del Bacilo germinan, crecen y metabolizan el azúcar produciendo ácido cambiando el pH, cambiando el color del indicador Bromocresol púrpura en el medio a un color amarillo.

Caso contrario si alguna sustancia antimicrobial está presente en la leche se inhibe la germinación y crecimiento de las esporas del Bacilo.

Esto conlleva a que la glucosa no cambie y no se presente ninguna producción ácida y por consiguiente el pH no cambia ni el color del Bromocresol Púrpura en el medio.

<http://www.capoinnovation.com>. (2007), indica que el Copan Milk Test es un ensayo de inhibición microbiano que tiene un grado alto de sensibilidad que permite el descubrimiento de una gama amplia de agentes antimicrobiales tales como:

Los Beta Lactámicos, Tetraciclinas, Macrólidos, Aminoglicosidos, Sulfonamidas, Trimethoprim y otros antibióticos (cuadro 4).

Según <http://es.wikipedia.org>. (2007), el *Bacillus stearothermophilus* es una bacteria Gram-positiva con forma de bacilo que se encuadra en el filo Firmicutes. Es una bacteria termófila, es decir que resiste a temperaturas altas por encima de 45 grados centígrados; extensamente distribuida en el suelo, manantiales calientes y sedimentos oceánicos y es causa de descomposición de los productos alimenticios. Es usada comúnmente como organismo de validación en los estudios de esterilización.

Cuadro 4. LÍMITES DE DETECCIÓN DEL CMT - COPAN MILK TEST.

AGENTE ANTIMICROBIAL	LMD (límite máximo de detección), (µg / L leche).
BETA-LACTAMICOS	
Penicilinas	1-2
Ampicilinas	< 2
Amoxicilina	2-4
Cloxacina	10-15
Dicloxacina	10-15
Oxacina	5-10
Naficilina	5-10
Ceftiofur	50-100
Cefquinome	30-100
Cefapirin	2.5-5
Cefoperazone	25-50
Cefaxcelin	> 45
Cefazolin	5-10
TETRACICLINAS	
Clortetraciclina	250-500
Oxitetraciclina	250-500
Tetraciclina	250-500
Doxiclina	150
SUFONAMIDAS	
Sulfathiazol	50-100
Sulfametacina	100-200
Sulfadioxina	100-200
Sulfadimethoxina	50-100
Sulfadiazine	50-100
Sulfamethoxazole	< 50
Sulfamonomethoxine	< 50
AMINOGLICÓSIDOS	
DH- Streptomina	<1000
Streptomina	<1000
Neomicina	500-2000
Gentamicina	100-500
Spectinomina	> 300
MACRÓLIDOS	
Eritromicina	> 200
Spiramicina	> 2000
Tilosin	50-100
Tilmicosin	75-100
OTROS ANTIBIÓTICOS	
Dapsone	2-4
Trimethoprim	100-150
Tiamfenicol	> 100
Cloramfenicol	5000-7500

Fuente: [http:// www.capoinnovation.com](http://www.capoinnovation.com). (2007).

F. CARGA BACTERIANA EN LA LECHE

1. Coliformes

La denominación genérica coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación de agua y los alimentos. Coliforme significa con forma de coli, refiriéndose a la bacteria principal del grupo, la *Escherichia coli*, descubierta por el bacteriólogo alemán Theodor Von Escherich en 1860. Von Escherich la bautizó como *bacterium coli* (“bacteria del intestino”), del griego Kolon, “intestino”). Con posterioridad, la microbiología sistemática nombraría el género *Escherichia* en honor a su descubridor.

El grupo coniforme está formado por los siguientes géneros:

- *Escherichia*.
- *Klebsiella*.
- *Enterobacter*.
- *Citrobacter*.

No todos los autores incluyen el género *Citrobacter* dentro del grupo Coliforme. En la higiene de los alimentos los coliformes no se consideran indicadores de contaminación fecal sino solamente indicadores de calidad. Los coliformes totales se usan para evaluar la calidad de la leche pasteurizada, leche en polvo, helados, pastas frescas, fórmulas para lactantes, fideos y cereales para el desayuno.

<http://es.wikipedia.org>. (2007), manifiesta que los coliformes fecales se usan para evaluar los mariscos frescos. Por último, la *E. coli* se usa como indicador en quesos frescos, quesillos, cereales para el desayuno, masas con relleno, alimentos infantiles, cecinas cocidas y verduras frescas.

2. Aerobios

<http://es.wikipedia.org>. (2007), asegura que los recuentos de los microorganismos viables se basan en el número de colonias que se desarrollan en placas previamente inoculadas con una cantidad conocida de alimento e inoculadas en condiciones ambientales determinadas. Estos recuentos no pueden considerarse como recuentos totales ya que solo son susceptibles de contaje aquellos microorganismos capaces de crecer en condiciones establecidas. Se puede conseguir una amplia gama de condiciones variando la temperatura, la atmósfera, la composición del medio, y el tiempo de incubación. El intervalo de temperaturas en el que crecen los microorganismos es muy amplio: de 34 grados C a 90 grados C. En función de esto se encuadra a los microorganismos en tres grupos:

- Los que crecen bien a 7 grados C o por debajo de esta temperatura: psicrótofos.
- Los que crecen entre 20 – 30 grados C, con una temperatura óptima de crecimiento está entre 30 – 40 grados C: mesófilos.
- Los que crecen por encima de los 45 grados C: termófilos.

En este grupo se incluyen todas las bacterias capaces de desarrollarse a 30 grados C en las condiciones establecidas. En este recuento se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación, las condiciones higiénicas de la materia prima. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. Ahora bien, salvo en alimentos obtenidos por fermentación, no son recomendables recuentos elevados.

Un recuento elevado puede significar:

- Excesiva contaminación de la materia prima.
- Deficiente manipulación durante el proceso de elaboración.

- La posibilidad de que existan patógenos, pues estos son mesófilos.
- La inmediata alteración del producto.

El recuento de mesófilos nos indica las condiciones de salubridad de algunos alimentos.

G. MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE CARGA BACTERIANA

Según <http://bilbo.edu.uy/~microbio.html>. (2001), los métodos utilizados para la identificación de carga bacteriana son procedimientos que permiten, cultivar, identificar y cuantificar el grado de contaminación de muestras en evaluación, en este contexto de manera generalizada se propone un esquema de trabajo para la identificación de una cepa bacteriana desde el punto de vista bioquímico:

- Obtener un cultivo puro.
- Examen microscópico de células vivas y de frotis teñido por coloración Gram. Se determina así la forma y el Gram del microorganismo en estudio. También es importante determinar la agrupación y la presencia de esporas y otras características morfológicas de interés.
- Determinar las características nutricionales (en general se desprenden de los métodos empleados en el aislamiento y cultivo anteriores); fotoautótrofos, fotoheterótrofos, quimioautótrofos, quimioheterótrofos.
- Realización de pruebas primarias: Se utilizan un grupo de pruebas, denominadas pruebas primarias, con las cuales se puede determinar el género, grupo de géneros o en algún caso familia a la que pertenece un aislamiento. Las pruebas primarias son: Gram, morfología, catalasa, oxidasa, OF, fermentación de glucosa, esporas, crecimiento en aerobiosis y anaerobiosis y movilidad.

La prueba presuntiva para diferenciación de los bacilos entéricos gramnegativos se basa en la valoración de la fermentación de la lactosa sobre medios de cultivo

adicionados con este carbohidrato, como AGAR ENDO ó AGAR EMB presentando las siguientes coloraciones: Colonias con brillo metálico: (*Escherichia coli*, otras coliformes). Colonias blancas: (*Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*):

- Enterobacilos que producen fermentación rápida de la lactosa: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*.
- Enterobacilos que producen fermentación lenta de la lactosa: *Edwardsiella*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Arizona*, *Providencia*, *Erwinia*.
- Enterobacilos que no producen fermentación de la lactosa: *Shigella*, *Salmonella*, *Proteus*, *Pseudomonas*.

La manera de cómo metabolizan este azúcar en los diferentes medios de cultivo selectivos se manifiesta por cambios en el color del medio con respecto al que originalmente tenía o bien por la coloración de las colonias, la cual es típica en algunos de ellos.

1. **Placas Petrifilm**

<http://www.3m.com/cms/html>. (2006), indica que las placas Petrifilm, son un método microbiológico listo para usar de alta calidad, utilizado por laboratorios microbiológicos e industrias alimenticias que necesitan cubrir riesgos de seguridad. A diferencia de los métodos alternativos, brinda una solución integral. Las placas petrifilm ayudan a maximizar la productividad al incrementar la eficiencia del laboratorio. Estas placas listas para usarse estandarizan y agilizan los procesos de pruebas.

Al utilizar Placas Petrifilm, se reduce el número de horas necesarias para desarrollar las pruebas microbiológicas. Las Placas Petrifilm entregan resultados consistentes y fáciles de leer, minimizando las posibilidades de errores de los métodos convencionales de agar. Existe una placa para casi cualquier necesidad de prueba microbiológica.

- Staph Express para el recuento de Staph aureus.
- Recuento de Aerobios.
- Recuento de Coliformes.
- Recuento de E. coli / Coliformes.
- Recuento de Mohos y Levaduras.
- Recuento de Enterobacterias.
- Recuento Rápido de Coliformes.
- De alta sensibilidad para Recuento de Coniformes.
- Para Monitoreo de Listeria en Ambientes.

2. Beneficios del uso de placas Petrifilm para evaluación de la carga bacteriana en la leche

a. Productividad

Las Placas Petrifilm elevan la productividad de las pruebas microbiológicas al incrementar la eficiencia del laboratorio permitiendo una utilización óptima de los recursos del laboratorio.

b. Estandarización de Metodologías

En pruebas microbiológicas eliminan la variabilidad del error humano en preparación de muestras para producir resultados consistentes entre plantas y de técnico a técnico.

c. Detección Rápida

Las Placas Petrifilm ayudan a los procesadores de alimentos a muestrear fácilmente y en línea productos y equipos, apoyando con una detección rápida y resolución de problemas por áreas.

d. Verificación HACCP

De acuerdo a <http://www.3m.com/cms/html>. (2006), ayudan a verificar sanitización en puntos críticos de control a lo largo de la operación del proceso de los alimentos incluyendo la línea de producción, equipo y pruebas ambientales. Su diseño exclusivo consiste en una película plástica cubierta de nutrientes y agentes gelificantes, por lo que están listas para utilizarse en cualquier momento. Al utilizar las Placas Petrifilm que ahorran tiempo de mano de obra y el resultado final es un mejor control del proceso y un producto de alta calidad.

H. LOS RESIDUOS MEDICAMENTOSOS, INHIBIDORES DE PROCESOS INDUSTRIALES

1. Los residuos medicamentosos

<http://www.alfaeditores.com>. (2007), manifiesta que en la agricultura y la ganadería luego de los años 50 lograron incrementar espectacularmente sus rendimientos, al incorporarse progresivamente innovaciones tecnológicas diversas. Una de ellas que no es la única, corresponde al uso de tratamientos químicos para el control de plagas de los cultivos y animales; y otra más a la utilización de medicamentos para prevenir y curar las enfermedades propias de los animales domésticos. Dentro de los plaguicidas, los insecticidas órgano clorados, organofosforados, los derivados del ácido carbámico y piretrinas y piretroides han sido los más aplicados. Los primeros prácticamente ya no se usan aunque su residualidad y autorización para emplearse en campañas sanitarias (sobre todo DDT), y con otros fines, hace posible detectarlos en los alimentos y en el medio en general. Los últimos antes citados, muy poco se utilizan para el proceso de producción de la leche debido a sus costos elevados.

La utilización de medicamentos de uso veterinario y de algunos plaguicidas organofosforados en el ganado lechero es una práctica común para prevenir y controlar enfermedades diversas en el mismo. Por otro lado, los plaguicidas organofosforados (POF), también se utilizan en el control de plagas y

enfermedades de cultivos destinados a la alimentación del ganado lechero, como pastos, alfalfa, sorgo y maíz, entre otros.

Cuando estas sustancias se aplican inadecuadamente pueden generar residuos tóxicos que a su vez pueden excretarse a través de la leche. En el caso de los medicamentos para uso veterinario, los antimicrobianos se destacan como el grupo de medicamentos más extensamente empleados, debido a las infecciones que constantemente se presentan en los animales, durante su crecimiento y desarrollo. Particularmente en nuestro medio están excesivamente usados los antibióticos, de los cuales la literatura científica da cuenta en numerosas publicaciones.

Sin embargo se conoce pocos informes sobre la residualidad de plaguicidas organofosforados y otros medicamentos de uso veterinario como los nitrofuranos y las sulfas y por ello este trabajo revisa este aspecto relacionado íntimamente con la inocuidad y calidad de leche y sus derivados. Los medicamentos y plaguicidas autorizados para usarse en el ganado lechero deben especificar tiempos de espera entre la administración del medicamento y el ordeño de la leche que se envía a la empresa industrial. Para pastos y cultivos destinados a la alimentación animal, también se deben indicar tiempos de espera entre su aplicación y la cosecha. La aparición de residuos de medicamentos y plaguicidas en la leche, se debe generalmente a que: a), no se respetan tiempos de espera, b), se usan dosis excesivas (sin seguir las indicaciones de la etiqueta), c), se usan sustancias no permitidas o no autorizadas.

Entre los residuos de medicamentos más comunes en la leche se encuentran las sulfonamidas y nitrofuranos, que se usan para el control de enfermedades infecciosas en la vaca, especialmente en la mastitis (inflamación de la ubre), y los POF que se aplican como ectoparasiticidas para el control de moscas y garrapatas, principalmente. La Federación Internacional de Lechería, señala que los residuos de sulfonamidas, nitrofuranos y órgano fosforados en la leche pueden generar efectos tóxicos en los humanos, en especial en los niños, ya que por su alto consumo en este alimento y su bajo peso corporal pueden resultar más sensibles a estas sustancias. Los daños a la salud ocasionados por órgano

fosforados están relacionados con su capacidad de inhibir la enzima colinesterasa que interviene en la transmisión de los impulsos nerviosos. Sus problemas tóxicos a largo plazo se han estudiado en trabajadores expuestos cotidianamente a esas sustancias. Entre ellos se mencionan: problemas neurotóxicos y conductuales; influencia positiva en la aparición del mal de Parkinson; exacerbación de enfermedades infecciosas; leucemia linfocítica crónica. Algunos se consideran teratogénicos y carcinogénicos. Los posibles efectos tóxicos de los residuos de medicamentos veterinarios y plaguicidas en la leche y derivados han llevado a las autoridades sanitarias de los países a establecer, límites máximos de estos residuos (LMR), para poder garantizar la inocuidad de este importante alimento. A nivel internacional la Organización Mundial de la Salud (OMS), y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), han formado un programa conjunto, a través del Codex Alimentarius, para establecer y recomendar los LMR de medicamentos de uso veterinario y plaguicidas en la leche. A nivel nacional, cada país implanta sus propias regulaciones al respecto. Se ha observado que en los países donde se tienen programas periódicos de seguimiento de residuos en la leche se ha logrado disminuir su incidencia (Honkanen, B. et al., 1997).

La producción de alimentos de alta calidad y sin residuos tóxicos es una exigencia en los países desarrollados, a la cual tienden los países en vías de desarrollo. Esto principalmente debido a que los consumidores están cada vez más preocupados por su salud y mejor informados sobre los efectos tóxicos que algunos residuos pueden generar. A pesar de esto, la presencia de residuos tóxicos en alimentos sigue siendo un problema vigente, sobre todo en países en los cuales se usan reiteradamente esas sustancias (<http://www.alores.com>. 2007).

2. Inhibición de los procesos industriales

Es importante destacar, que los residuos de antibióticos, causan graves daños en la industria lechera, ya que la elaboración de derivados lácteos como queso y yogurt necesitan el desarrollo de la flora ácido láctica. Esta flora, es inhibida por la presencia de concentraciones pequeñas de antibióticos y sulfas, razón por la cual las industrias realizan rutinariamente un control interno, para separar la leche

ausente de estos residuos y destinarla a la elaboración de estos productos.

Las sulfonamidas, inhiben el desarrollo de la flora ácido láctica en los procesos de industrialización de la leche (*Strp. Cremoris*, *Strp. lactis*, *Strp. thermophilus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. helveticus*, *Lb. Lactis*), debido a que son análogos de estructurales del ácido paraminobenzóico (APAB), e inhiben competitivamente un paso enzimático (sintetasa de hidropterato), durante el cual el APAB se incorpora a la síntesis del ácido dididrofólico (ácido fólico). Debido a la reducción de la síntesis de dihidrofolato, las concentraciones de tetrahidrofolato (ácido folínico), formado a partir del dihidrofolato disminuyen.

El tetrahidrofolato es un componente esencial de las coenzimas responsables del metabolismo carbonado simple en las células. Funcionando como antimetabolitos del APAB, las sulfonamidas finalmente bloquean de manera compleja varias enzimas entre estas enzimas están las necesarias para la síntesis de bases púricas; para el paso de desoxiuridina a timidita; y para la síntesis de meteonina, glicina y formilmeteonil-ARN transferente. Esto da lugar a la supresión de la síntesis proteica alteración de los procesos metabólicos, e inhibición del crecimiento y multiplicación de los microorganismos incapaces de usar el folato preformado. El efecto es bacteriostático y en concentraciones elevadas que pueden alcanzarse en la leche el efecto es claramente bactericida.

Por su parte las tetraciclinas, inhiben el desarrollo de la flora ácido láctica en los procesos de industrialización de la leche, debido a que estos antibióticos se unen en forma reversible a los ribosomas 30 S bacterianos e inhiben la síntesis proteica, posiblemente a través de varios mecanismos, principalmente parece afectarse la unión del aminoacil – ARNt al sitio aceptor en el complejo ARNm ribosoma. Las tetraciclinas penetran en los microorganismos en parte por difusión y en parte por un sistema de energía mediado por portadores responsables de las elevadas concentraciones que alcanzan estos antibióticos en las bacterias sensibles. Las tetraciclinas generalmente son bacteriostáticas y bactericidas en concentraciones elevadas presentes en la leche, ya que los microorganismos pierden la integridad funcional de su membrana citoplasmática. Se debe considerar que el factor de dilución, es decir mezclar leche de un animal

tratado con estos fármacos con leche exenta de ellos, no influye en la determinación de concentraciones residuales, pues se ha comprobado que la leche de una vaca tratada es capaz de contaminar 10.000 litros de leche (<http://www.tecnovet.uchile.cl>. 2006).

3. Problemas en las empresas lácteas

De manera general, la presencia de residuos en la leche es un riesgo grave para la industria láctea. El origen de estos residuos son muy diversos: pesticidas utilizados en los cultivos, contaminantes como los Dióxidos, metales duros, desechos radioactivos, y también medicamentos utilizados en las granjas. Antibióticos, anti-inflamatorios, antiparasitantes son los más frecuentes. A esta lista se puede adicionar los productos de higiene utilizado en el material de ordeño, el local y limpieza de ubre.

La mayoría de microorganismos contaminantes (bacterias), pueden ser reducidos o eliminados por tratamientos tecnológicos: calentamiento, bacto-fugación, micro filtración, bacteria antagónica. Pero ningún tratamiento tecnológico puede ser eficaz sobre la presencia de residuos químicos en la leche. Una leche contaminada es impropia a la industrialización. La transformación de leche debe ser a un producto sano es responsabilidad del ministerio público.

Los principales efectos provocados por la presencia de antibióticos en los procesos industriales de queso y productos fermentados, son los siguientes: demora en la acidificación, coagulación, coagulación deficiente, disminución de la retención de agua, desarrollo de microorganismos indeseables, alteración de las características normales del producto (cuerpo débil, textura blanda, sabor amargo excesiva acción del cuajo, consistencia arenosa e el yogurt, e interferencia en la formación de aroma en mantequilla fermentada. Los residuos medicamentosos tienen dos tipos de consecuencias: tecnológicas y sanitarias con repercusión comercial y económica generalmente (Baraton, Y. 2006).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se realizó en nueve ganaderías de la provincia de Chimborazo distribuidas en tres cantones Chambo (San Benjamín, Gultus y la Virginia), Riobamba (san Jorge, Estación experimental Tunshi y Almeida), y Guano (José Romero, Cenincaguan y Pusniag San Patricio).

El cantón Riobamba perteneciente a la provincia de Chimborazo cuenta con las siguientes características medioambientales que se detalla en el cuadro 5.

Cuadro 5. CONDICIONES METEOROLÓGICAS PROMEDIO DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO.

Parámetro	Promedio
Altitud, msnm	2.754
Temperatura, °C	14
Humedad relativa, %	76.0
Precipitación anual, mm/año	897.5

Fuente: <http://www.visitaecuador.com/andes.php?opcion=datos&provinciudad=8FR1HivB>. (2011).

El presente experimento tuvo una duración de 120 días, periodo en el cual se muestreo la leche para analizar la presencia de residuos de antibióticos y sulfonamidas, además las características físicas, microbiológicas, sensoriales y control de calidad de esta secreción láctea.

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

En la presente investigación se analizaron 9 unidades experimentales de nueve ganaderías lecheras distribuidas en tres cantones y tres ganaderías por cantón de la provincia de Chimborazo distribuidas Chambo (San Benjamín, Gultus y la Virginia), Riobamba (san Jorge, Estación experimental Tunshi y Almeida), y

Guano (José Romero, Cenincaguan y Pusniag San Patricio), (Chambo, Riobamba y Guano), para lo cual se evaluó cinco muestras cada 30 días un volumen de 5 litros en cada una de ellas.

C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES

1. Para registrar la información

- Registros
- Bolígrafos
- Libreta de apuntes
- Cámara fotográfica

2. Muestreo de leche

- Galones.
- Embudos.
- Tijera.
- Frascos asépticos.
- Jarra 1 lt.

3. Determinación de antibiótico y sulfonamidas

a. Materiales

- Tijeras.
- Pipetas de 100 uL (incluidas en el kit), tubo con agar medio (Con esporas de *Bacillus Stearothermophilus calidolactis*).
- Guantes asépticos.

b. Equipos

- Incubadora eléctrica 230V AC a 64 °C.

c. Reactivo

- Bromocresol púrpura (incluido en el agar).

4. Determinación de características físicas de la leche

- Termolactodensímetro
- peachímetro

D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

En la presente investigación se analizó la presencia de residuos de antibióticos y sulfonamidas, además de las características físicas y organolépticas de la leche procedente de tres cantones y tres ganaderías por cantón durante tres etapas cada 30 días los cuales se analizaron bajo un diseño cuadrado latino el cual se ajusta al siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ij} = u + C_i + H_j + F_k + E_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ij} : Valor estimado de la variable

U: Media general

C_i : Efecto de los cantones de la provincia de Chimborazo

H_j : Efecto de las muestras obtenidas en cada ganadería

F_j : Efecto de la frecuencia de recopilación de las muestras de leche

E_{ij} : Error Experimental

El esquema del experimento se detalla en el cuadro 6.

Cuadro 6. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.

Cantón	Ganaderías	Código	muestras	Lt/UE	UE/Ganadería
Chambo	Benjamín	T1	1	5	5
	Guiltus	T2	1	5	5
	Virginia	T3	1	5	5
Riobamba	San Jorge	T4	1	5	5
	Tunshi	T5	1	5	5
	Almeida	T6	1	5	5
Guano	Romero	T7	1	5	5
	Cenincaguan	T8	1	5	5
	Pusniag	T9	1	5	5
Total					45

Lt/UE: Litros de leche/ Unidad experimental,

Elaboración: Lovato, J. (2012).

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Las mediciones experimentales que se analizaron en la presente investigación fueron:

Presencia de residuos:

- Antibióticos
- Sulfonamidas

Análisis fisicoquímico

- pH de la leche
- Densidad

Presencia de microorganismos:

- Coliformes totales y
- Aerobios mesófilos (UFC/g)

Análisis sensorial de la leche:

- Color,

- Olor,
- Sabor,
- Características organolépticas totales y
- Aceptabilidad (%)

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

Análisis de la Varianza (ADEVA).

Separación de medias según Tukey $P < 0,05$.

Análisis de Correlación y Regresión lineal, con ajuste de la curva.

El esquema del ADEVA se detalla en el cuadro 7.

Cuadro 7. ESQUEMA DEL ADEVA.

FUENTES DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
TOTAL	8
Cantones	2
Fincas	2
Hora de recepción de la muestra	2
Error Experimental	2

Elaboración: Lovato, J. (2012).

G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1. Recopilación de muestras

Las muestras de leche para determinar la presencia de antibióticos y sulfonamidas, además de microorganismos como coliformes fecales y aerobios mesófilos y características organolépticas se realizó en cada una de las ganaderías un volumen de 5 litros / ganadería la misma que fueron homogeneizada para determinar las variables en estudio.

2. Manejo de las muestras

Las muestras tomadas en cada una de las ganaderías se receptaron en un recipiente estéril y protegido para evitar la contaminación y alteración de microbiología y características físico química y organoléptica de la secreción láctea.

H. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN

1. Determinación de procedencias de leche en la provincia de Chimborazo

Al iniciar la investigación se procedió a la determinación de las 9 fincas de la provincia de Chimborazo acentuadas en tres cantones de la provincia de Chimborazo.

2. Análisis de Laboratorio

Se procedió al muestreo de las 9 ganaderías de la provincia de Chimborazo, para lo cual se procedió de la siguiente manera:

- Muestreo en pool de cada ganadería.
- Para obtener cada unidad experimental se compraron cinco litros de leche los mismos que fueron homogenizados, para obtener un litro el mismo que se constituyó en una unidad experimental.
- Se usaron cinco litros de leche de cada ganadería de cada cantón (9 ganaderías).

a. Determinación de antibióticos y sulfonamidas

Se utilizó la prueba COPAN MILK TEST para la determinación de Antibióticos y Sulfonamidas con el siguiente procedimiento:

- Cuidadosamente con la tijera se debe recortar cada tubo que contiene el agar.

- Con la pipeta especial No Drop Count Pipet se toma 100 μL la leche.
- En cada tubo colocar los 100 μL de leche.
- Colocar cada tubo con el agar y la leche en la incubadora previamente encendida e incubamos por tres horas.
- Observar los cambios producidos y determinamos la presencia de antibióticos.

b. Determinación Aerobios Mesófilos y Coliformes Totales

En la determinación de Aerobios Mesófilos y Coliformes Totales, se procedió de la siguiente manera.

- En un tubo de ensayo poner 9 ml de agua destilada.
- Medir 1ml de leche, añadimos al tubo de ensayo para homogenizar la solución.
- Inocular 1ml de la disolución de la muestra y esparcir en el medio de cultivo correspondiente (Aerobios Mesófilos Totales o Coliformes Totales).
- Incubar a 37 C⁰.
- Realizar el conteo de colonias.

3. Formulación alternativas para enfrentar el problema

Una vez obtenidos los resultados de laboratorio, se procedió a diseñar alternativas zootécnicas y sanitarias que permitan crear conciencia en los productores, comercializadores de leche, industriales y consumidores, con el fin de enfrentar al grave problema de residuos medicamentosos en la leche.

4. Análisis físico de la leche

Las muestras frescas de leche con la ayuda del termo lactodensímetro se midió la densidad de la leche, de la misma manera con la ayuda del peachímetro se midió el pH de la leche.

5. Análisis organoléptico de la leche

Las características organolépticas de la leche se evaluaron tomando en consideración la escala de Sancho, J. et al., (2004), los cuales sugieren dar una escala de 1 – 5 para determinar las características típicas de la leche en lo referente a color, olor, sabor además de las características totales de la aceptabilidad de la leche, cuya evaluación se realizó con el apoyo de profesionales del área de lácteos (tutor y Asesor de tesis, esta evaluación se desarrolló debido a que la presencia de antibióticos o ausencia de ellas influye en la percepción de los consumidores en general, puesto que la naturaleza de los antibióticos tienen un olor característico los cuales son eliminados a través de la secreciones de los animales, en este caso de la leche.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. PRESENCIA DE RESIDUOS

1. Antibióticos y sulfonamidas

La presencia de antibióticos y sulfonamidas en las vacas de las ganaderías de Riobamba y Guano en el mes de diciembre fue evidente en 1 y 2 ganaderías respectivamente en el mes de enero en cambio se presentó en las ganaderías de Riobamba y Chambo (2 en cada una), y en el mes de febrero en las ganaderías de Chambo y Guano 1 en cada una, por lo visto se puede mencionar, a pesar de haber sometido a un proceso de capacitación, la leche de las ganaderías presentan antibióticos y sulfonamidas, esto posiblemente se deba a que el ganadero no quiere perder por tanto a pesar de conocer que la leche de vacas tratadas con antibióticos y sulfonamidas a esta secreción láctea siguen comercializado, puesto que estos productos causan problemas en la industrialización, principalmente cuando esta leche va a ser industrializada en queso o producto fermentado.

Si analizamos la presencia de antibióticos y sulfonamidas, debemos manifestar que se reporta en el mes de diciembre del 2011, enero y febrero del 2012, se encuentran en todas las ganaderías de leche con estos residuos farmacológicos, debiéndose a que estos ganaderos no aceptan que deben comercializar este tipo de leche.

Según Díaz, C. (2008), la leche analizada con el Copan Milk Test, en las seis marcas de leche, se determinó un resultado positivo en el 100% de las muestras de leche de las marcas Prolac y Avelina, posteriormente la leche Parmalat presenta el 20% de casos positivos para Antibióticos y Sulfonamidas. De esta manera se puede mencionar que las empresas industriales tampoco hacen nada por restringir la leche con residuos fármacos, sino más lo comercializan a los consumidores finales, los resultados experimentales de la leche se detallan en los cuadro 8, 9 y 10.

Cuadro 8. RESULTADOS EXPERIMENTAL DE LA LECHE DE DIFERENTES GANADERÍAS SEGÚN PROCEDENCIAS.

Variables	Procedencias			Sign	CV %	Media
	Chambo	Riobamba	Guano			
Antibióticos y sulfonamidas Diciembre %	0.00 a	33.00 a	67.00 a	ns	15.32	
Antibióticos y sulfonamidas Enero %	67.00 a	0.00 a	67.00 a	ns	17.18	
Antibióticos y sulfonamidas febrero %	33.00 a	0.00 a	33.00 a	ns	15.00	
pH	6.53 a	6.43 a	6.40 a	ns	2.25	6.46
Densidad	1.029 a	1.029 a	1.029 a	ns	0.09	1.03
Aerobios Mesofilos UFC/g Diciembre	1.56E+05 a	4.00E+04 a	5.43E+04 a	ns	6.55	83555.56
Aerobios Mesofilos UFC/g Enero	1.35E+05 a	4.37E+04 a	5.23E+04 a	ns	4.56	77111.11
Aerobios Mesofilos UFC/g Febrero	4.23E+05 a	5.00E+04 a	3.62E+04 a	ns	5.05	1.70E+05
Coliformes totales UFC/g diciembre	1.42E+05 a	2.39E+04 a	3.23E+04 a	ns	11.84	6.60E+04
Coliformes totales UFC/g Enero	1.17E+05 a	3.60E+04 a	4.60E+04 a	ns	3.08	6.63E+04
Coliformes totales UFC/g Febrero	6.90E+04 a	3.57E+04 a	1.28E+04 a	ns	9.92	3.92E+04
Color (puntos)	4.26 a	4.14 a	4.26 a	ns	2.98	4.22
Olor (puntos)	3.62 a	3.50 a	3.98 a	ns	7.59	3.70
Sabor (puntos)	3.45 a	3.36 a	4.12 a	ns	9.87	3.64
Aceptabilidad (puntos)	3.40 a	3.31 a	4.00 a	ns	7.02	3.57
Total (puntos)	14.74 ab	14.31 b	16.36 a	*	1.57	15.13
Precio	0.49 a	0.39 a	0.33 a	ns	10.20	0.39

Letras iguales no difiere significativamente según Tukey al 5%.

CV: Coeficiente de variación en %.

Ns" No difiere significativamente (P > 0.05).

*: Diferencias significativas (P < 0.05).

Cuadro 9. RESULTADOS EXPERIMENTAL DE LA LECHE RECEPTADO EN DIFERENTES HORAS DE DIFERENTES PROCEDENCIAS.

Variables	Horas			Sign	CV %	Media
	6:00	7:00	8:00			
Antibióticos y sulfonamidas Diciembre	33.00 a	33.00 a	33.00 a	ns	15.32	1.00
Antibióticos y sulfonamidas Enero	33.00 a	33.00 a	67.00 a	ns	17.18	1.00
Antibióticos y sulfonamidas febrero	0.00 a	67.00 a	0.00 a	ns	15.00	1.00
pH	6.50 a	6.37 a	6.50 a	ns	2.25	6.46
Densidad	1.09 a	1.020 a	1.029 a	ns	0.09	1.03
Aerobios Mesofilos UFC/g Diciembre	6.47E+04 a	8.77e+04 a	9.83e+04 a	ns	6.55	83555.56
Aerobios Mesofilos UFC/g Enero	5.40E+04 a	8.30e+04 a	9.43e+04 a	ns	4.56	77111.11
Aerobios Mesofilos UFC/g Febrero	2.36E+05 a	1.09e+05 a	1.64e+05 a	ns	5.05	1.70E+05
Coliformes totales UFC/g diciembre	4.90E+04 a	8.00e+04 a	6.89e+04 a	ns	11.84	6.60E+04
Coliformes totales UFC/g Enero	4.57E+04 a	6.73e+04 a	8.60e+04 a	ns	3.08	6.63E+04
Coliformes totales UFC/g Febrero	4.53E+04 a	3.66e+04 a	3.55e+04 a	ns	9.92	3.92E+04
Color (puntos)	4.14 a	4.19 a	4.33 a	ns	2.98	4.22
Olor (puntos)	3.57 a	3.74 a	3.79 a	ns	7.59	3.70
Sabor (puntos)	3.48 a	3.69 a	3.76 a	ns	9.87	3.64
Aceptabilidad (puntos)	3.38 a	3.67 a	3.67 a	ns	7.02	3.57
Total (puntos)	14.57 b	15.29 a	15.55 a	ns	1.57	15.13
Precio de la leche	0.42 a	0.40 a	0.34 a	ns	10.20	0.39

Letras iguales no difiere significativamente según Tukey al 5%.

CV: Coeficiente de variación en %.

Ns" No difiere significativamente (P > 0.05).

*: Diferencias significativas (P < 0.05).

Cuadro 10. RESULTADOS EXPERIMENTAL DE LA LECHE DE DIFERENTES GANADERÍAS SEGÚN PROCEDENCIAS.

Variables	GANADEROS			Sign	CV %	Media
	1	2	3			
Antibióticos y sulfonamidas Diciembre %	0.00 a	67.00 a	33.00 a	ns	15.32	0.33
Antibióticos y sulfonamidas Enero %	33.00 a	33.00 a	67.00 a	ns	17.18	0.44
Antibióticos y sulfonamidas febrero %	0.00 a	33.00 a	33.00 a	ns	15.00	0.22
pH	6.50 a	6.50 a	6.37 a	ns	2.25	6.46
Densidad	1.027 a	1.029 a	1.031 a	ns	0.09	1.03
Aerobios Mesofilos UFC/g Diciembre	9.90E+04 a	7.30e+04 a	7.87e+04 a	ns	6.55	83555.56
Aerobios Mesofilos UFC/g Enero	9.63E+04 a	6.63e+04 a	6.87e+04 a	ns	4.56	77111.11
Aerobios Mesofilos UFC/g Febrero	1.77E+05 a	8.85e+04 a	2.44e+05 a	ns	5.05	1.70E+05
Coliformes totales UFC/g diciembre	8.57E+04 a	5.93e+04 a	5.29e+04 a	ns	11.84	6.60E+04
Coliformes totales UFC/g Enero	7.93E+04 a	6.07e+04 a	5.90e+04 a	ns	3.08	6.63E+04
Coliformes totales UFC/g Febrero	4.33E+04 a	3.38e+04 a	4.03e+04 a	ns	9.92	3.92E+04
Color (puntos)	4.26 a	4.36 a	4.05 a	ns	2.98	4.22
Olor (puntos)	3.69 a	3.81 a	3.60 a	ns	7.59	3.70
Sabor (puntos)	3.69 a	4.00 a	3.24 a	ns	9.87	3.64
Aceptabilidad (puntos)	3.55 a	3.86 a	3.31 a	ns	7.02	3.57
Total (puntos)	15.19 ab	16.02 a	14.19 b	*	1.57	15.13
Precio de la leche	0.45 a	0.32 a	0.39 a	ns	10.20	0.39

Letras iguales no difiere significativamente según Tukey al 5%.

CV: Coeficiente de variación en %.

Ns" No difiere significativamente (P > 0.05).

*: Diferencias significativas (P < 0.05).

Por otro lado es necesario manifestar que los niveles de antibióticos detectados por el Copan Milk Test dependen del tipo de antibiótico presente, y la prueba registra positivo para Betalactámicos cuando la leche tiene niveles entre 1 y 100 μg dependiendo del antibiótico específico, de 150 a 500 μg de Tetraciclinas, de 50 a 2000 μg de Sulfonamidas, de 75 a 2000 μg de Macrólidos y de 2 a 7500 μg de otros antibióticos como el cloranfenicol, en el gráfico 1, se indica la presencia de antibióticos y sulfonamidas en la leche recopiladas a tres horas, de tres ganaderías en tres cantones.

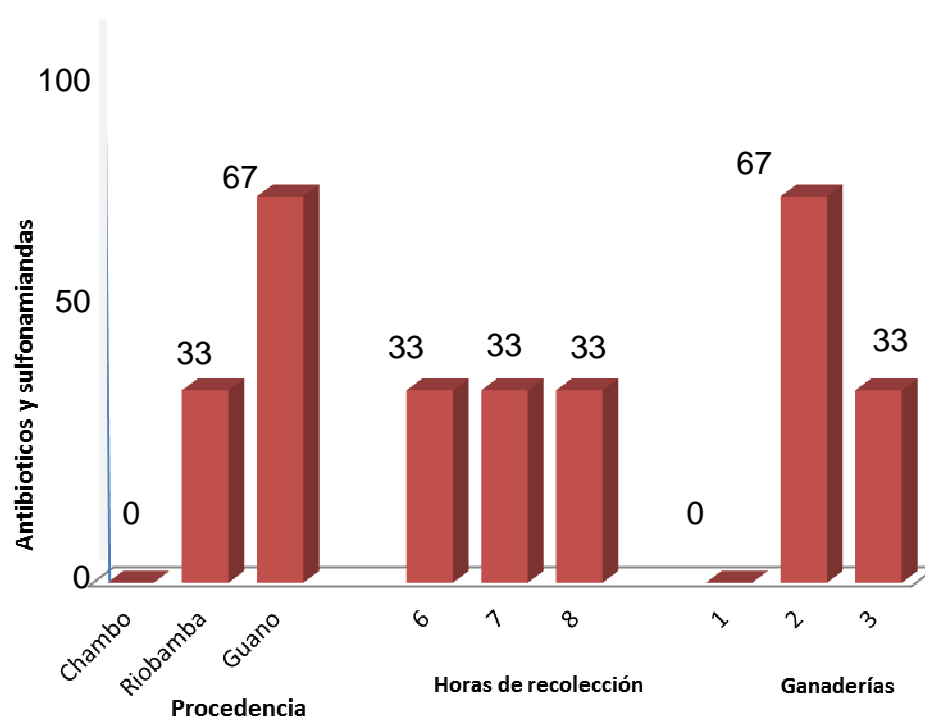


Gráfico 1. Presencia de antibióticos y sulfonamidas en la leche recopiladas a tres horas, de tres ganaderías en tres cantones.

B. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO

1. pH

La leche receptada en las diferentes ganaderías de Chambo, Riobamba y Guano registraron un pH de 6.53, 6.43 y 6.40 determinándose que estas leches corresponden a leches acidas, esto quizá se deba a que la mayor parte de estas se poseen en su contenido una cantidad de microorganismos los mismos que

hacen que la leche sea ligeramente acida los mismos que deben ser tratadas inmediatamente o someter a un proceso de enfriamiento o pasteurizado para evitar la acidificación o que se dañe con facilidad, en el gráfico 2, se indica el pH de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones..

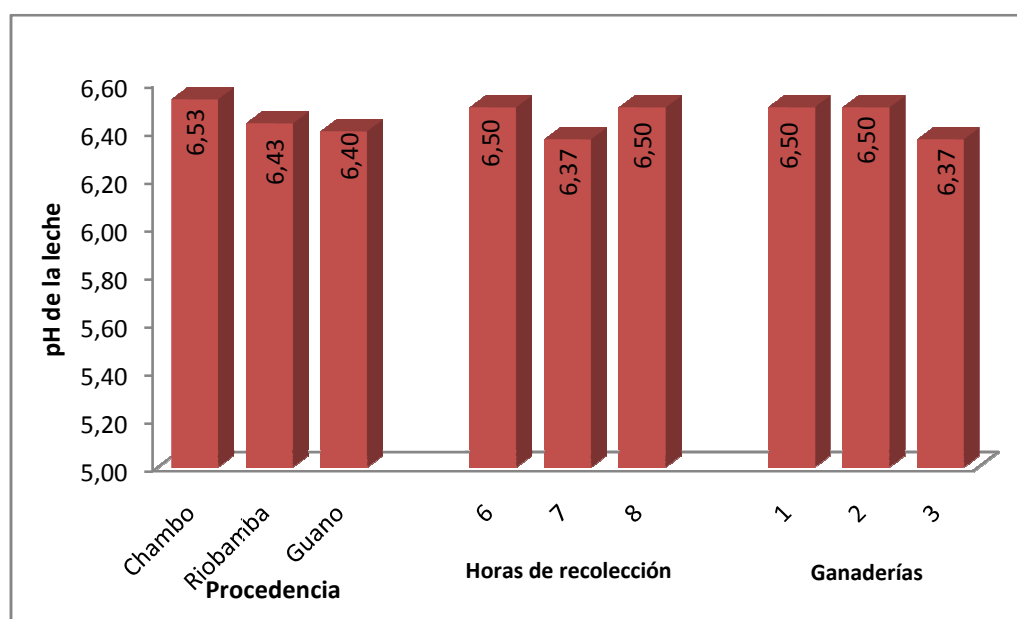


Gráfico 2. pH de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

La leche receptada a las 6:00, 7:00 y 8:00 horas presentaron pH de 6.50, 6.37 y 6.50, correspondiendo a una leche ligeramente acida, principalmente la leche obtenida a las 7:00 AM, esto quizá se deba a diferentes causas, aunque no se observa que este indicador se vea afectado por el tiempo de recepción de la leche, esto posiblemente se deba al clima, puesto que los días en la cual se planifico la recopilación de las muestras para analizar la leche fue frio o los días se encontraban bajo pequeñas lloviznas las mismas que hacen que la calidad no cambie principalmente el pH de la leche.

Carrión, A. (2008), reporta que la leche mediante el ordeño manual presentaron pH de 6.69, 6.71, 6.75 Y 6.78; los cuales son superiores a los registrados en la presente investigación, de esta manera se puede manifestar que tiende alejarse de los estándares, cuando comparamos los resultados con Alviar, J. (2002), en la cual menciona que el pH varía de 6.5 – 6.6, de esta manera se puede mencionar

que la leche de estas ganaderías tienden a ser acidas.

2. Densidad

La densidad de la leche de las diferentes procedencias registro un valor de 1.029 y un coeficiente de variación de 0.09 %, al realizar los análisis de varianza no se determinó diferencias estadísticas entre los diferentes factores en estudio. Al analizar la densidad de la leche según el origen de las ganaderías, se puede mencionar que en las ganaderías 1 de Chambo, Riobamba y Guano registran una densidad de 1.027 correspondiendo a una leche que se encuentra en el mínimo de la densidad para aceptar, los que no ocurre con los ganaderos 2 y 3 con los cuales se determinaron densidades de 1.029 y 1.031, en el gráfico 3, se indica la densidad de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

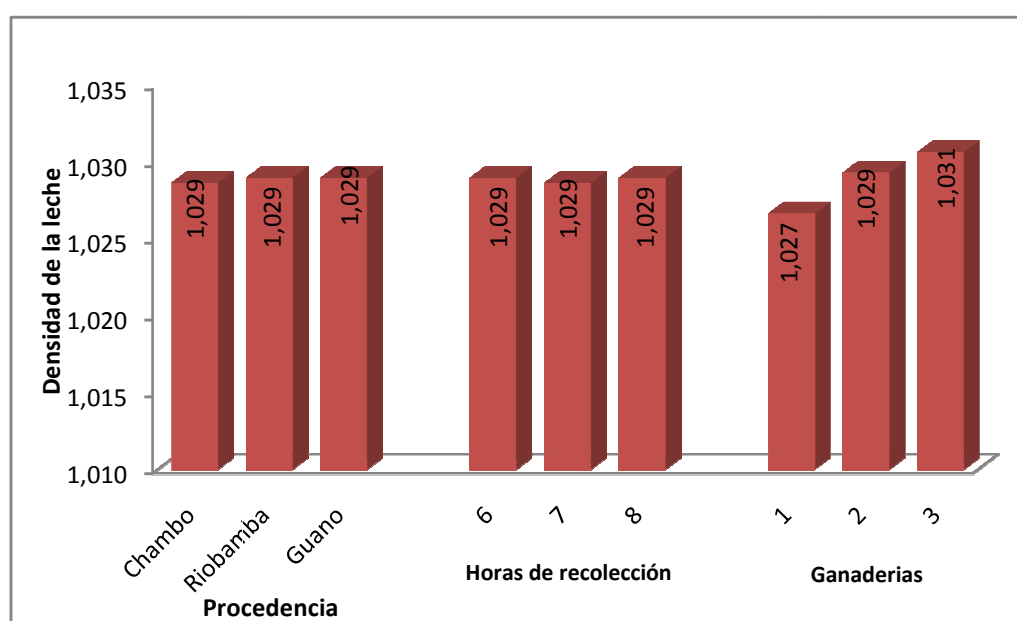


Gráfico 3. Densidad de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

Carrión, A. (2008), señala que la densidad fue entre 28.60 y 27.75; los cuales se encuentran dentro de los reportados en la presente investigación por lo que se puede mencionar que este parámetro se encuentra dentro de los mencionados por el autor en mención.

C. PRESENCIA DE MICROORGANISMOS

1. Coliformes totales UFC/g

La presencia de coliformes totales en diciembre del 2011, enero, febrero del 2012 en promedio registraron 83555, 71111 y 1.7×10^5 UFC/g, pudiendo manifestarse que la presencia de este tipo de microorganismos es evidente en todas las ganaderías evaluadas, esto se debe a que la leche es recién ordeñada lo que significa que esta leche requiere de un tratamiento de enfriamiento para que esta leche reduzca la carga microbiana, en el gráfico 4, se indican los coliformes totales en la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

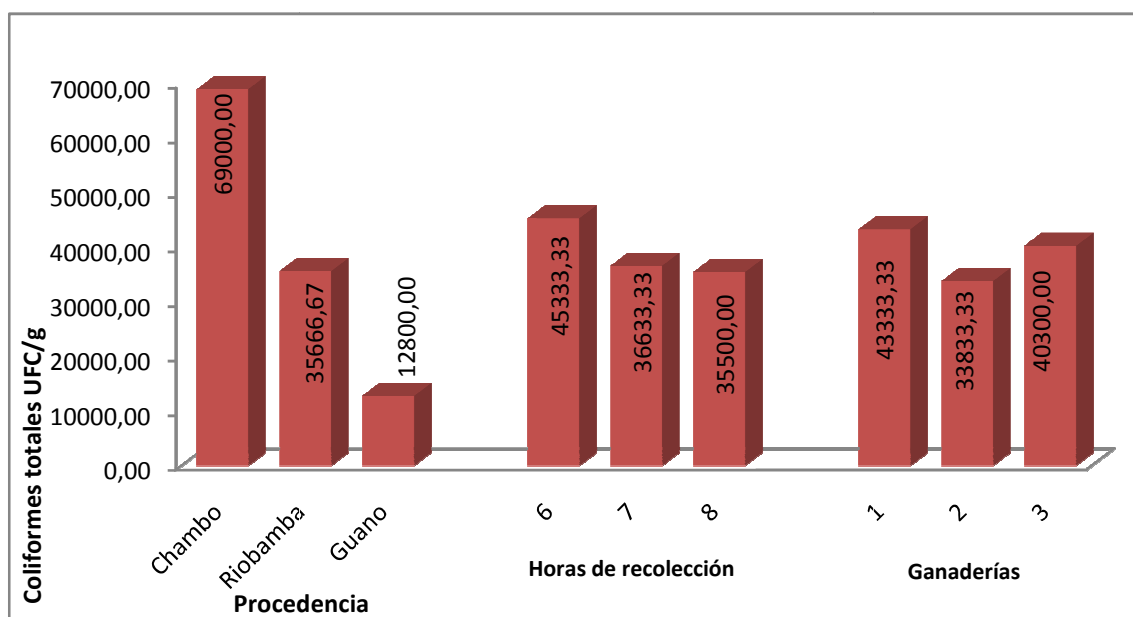


Gráfico 4. Coliformes totales en la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

Díaz, C. (2008), reporto que la presencia de Coliformes Totales se encontraron en el 10% del total de muestras de leche analizada sin importar la marca de la leche, por otro lado de acuerdo a la marca de leche, se determinó una incidencia de Coliformes Totales en el 20% de muestras de las marcas La Lechera, Parmalat y Vita Leche con cargas promedio de 1, 2 y 1 UFC/ ml respectivamente. Según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN. (2003), cita que establece que el recuento de

Coliformes Totales debe tener un límite máximo de 5.0×10^6 UFC/ml, por lo manifestado por esta norma significa que la leche cruda de estas ganaderías requiere de un proceso de pasteurización debido a su alta carga microbiana. Ruiz, M. (1994), quien manifiesta que las infecciones coliformes causantes de mastitis son relativamente raras, mostrando en algunos estudios un porcentaje bajo de cuartos glandulares infectados, esto permite mencionar que la presencia de este problema mamario está presente en estas ganaderías.

2. Aerobios mesófilos UFC/g

En las ganaderías de Chambo, Riobamba y Guano en los meses de diciembre 2011, enero y febrero 2012 se registró 6.6×10^4 , 6.63×10^4 y 3.92×10^4 UFC/g, de esta manera se puede mencionar que la leche de estos sectores y ganaderías disponen de microorganismos, esto se debe a que este tipo de microorganismos se encuentran en el espacio los mismos que se integran en la secreción láctea debido a que estas viven en el ambiente y su contaminación es inevitable, en el gráfico 5, se indican los aerobios mesófilos en la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones..

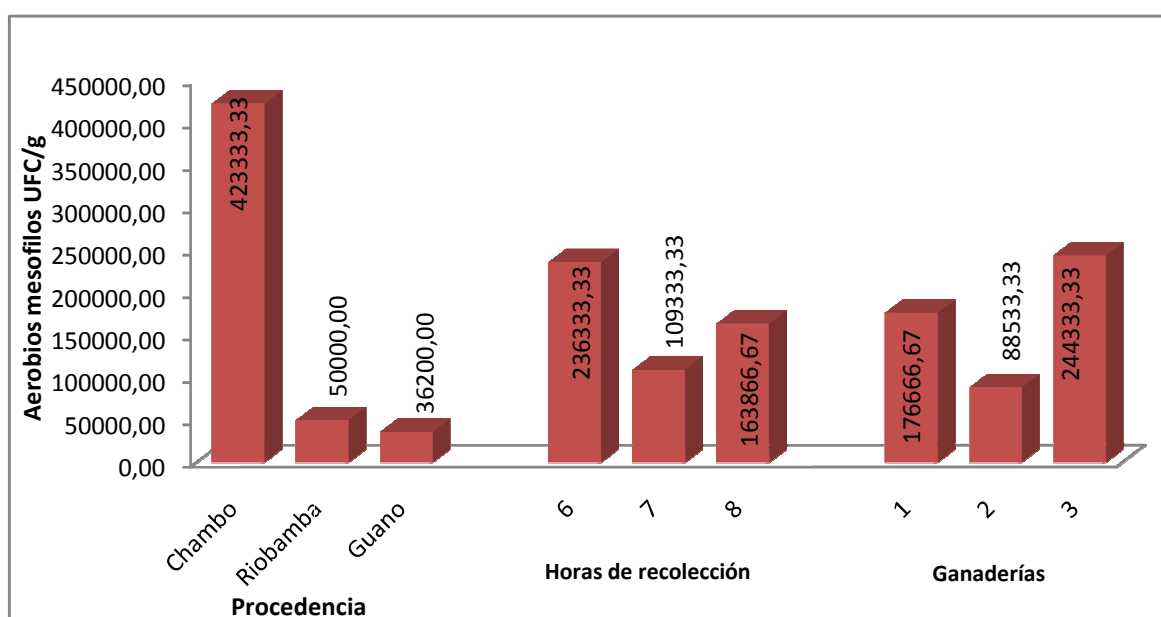


Gráfico 5. Aerobios mesófilos en la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

Según Díaz, C. (2008), cita que la presencia de Aerobios Mesófilos en todas las marcas que analiza se determinó una incidencia del 19% de casos positivos. En base a los resultados obtenidos se puede determinar que existe contaminación de las diferentes procedencias de leche del cantón Chambo, Riobamba y Guano, al respecto Robinson, M. (1997), indica que el factor más importante que determina la presencia de micro-organismos patógenos en la leche es la temperatura de almacenamiento y transporte. De acuerdo al mismo autor, los microorganismos alterantes estreptococos y coliformes predominan entre 25° C y 30° C, y producen un incremento de la acidez de la leche. De esta manera en la presente investigación se puede manifestar que la leche cruda necesariamente tiene que someterse a un proceso de pasteurización con la finalidad de reducir la carga microbiana, principalmente patógena que causa daño a la salud de los consumidores.

Por otro lado los niveles bacterianos de Mesófilos en las diferentes procedencias de leche están fuera del límite de aceptación, ya que la Norma Técnica Ecuatoriana INEN. (2003), establece que el recuento de Aerobios Mesófilos Totales debe tener un límite máximo de 3×10^4 UFC/ml.

D. ANÁLISIS SENSORIAL DE LA LECHE

1. Color (puntos)

El color de la leche según los catadores en promedio registro 4.22/ 5.00 puntos equivalente a una leche de muy buena aceptación, con un coeficiente de variación de 2.98 %, al analizar los resultados experimentales no se encuentra diferencias significativas entre los diferentes cantones, horas de recepción y ganaderías.

2. Olor (puntos)

El olor de la leche de los diferentes cantones, ganaderías y horas de recepción de la muestra según los catadores en promedio presento un valor de 3.70/ 5.00 puntos equivalente a una leche cercana a muy buena aceptación, con un

coeficiente de variación de 7.59 %, al someter los resultados experimentales al análisis de varianza no se encuentra diferencias significativas entre los diferentes factores en estudio, en el gráfico 6, se indica el color de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones, en tanto que en el gráfico 7, se indica el olor de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones..

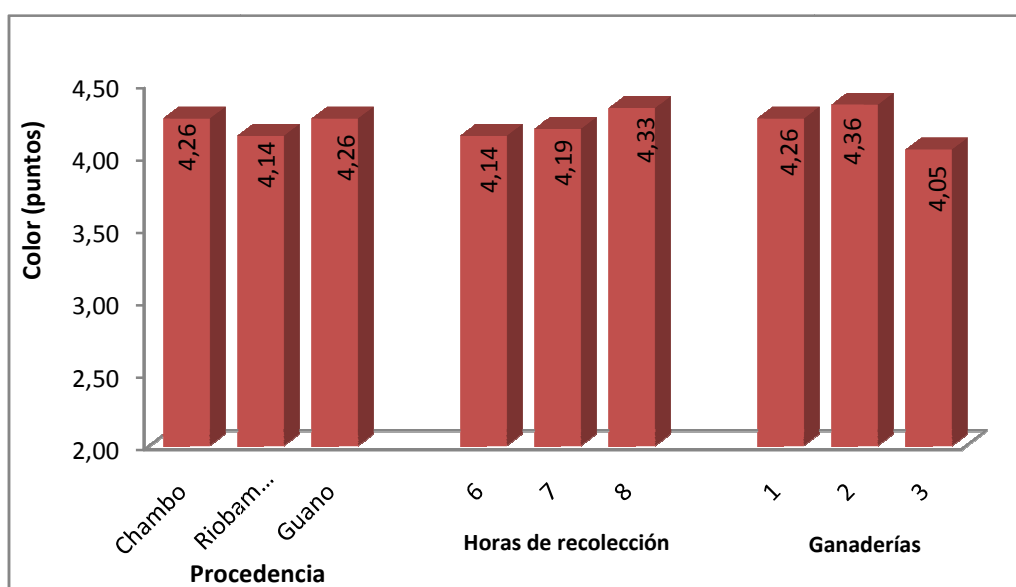


Gráfico 6. Color de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

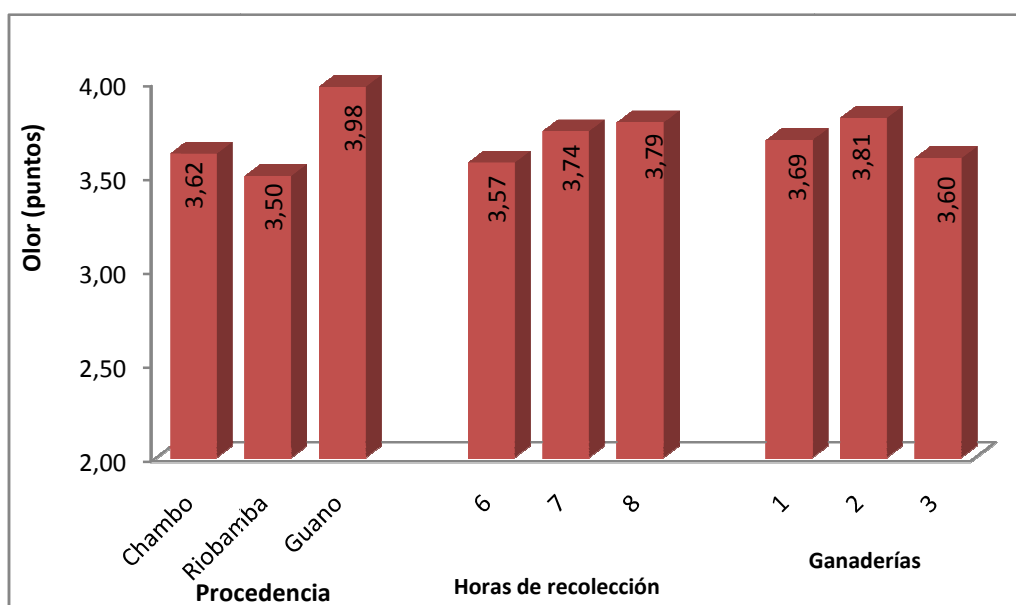


Gráfico 7. Olor de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

3. Sabor (puntos)

El sabor de la leche recopilada en tres horas diferentes y tres ganaderías de los cantones de Chambo, Riobamba y Guano de la provincia de Chimborazo, según los catadores en promedio fue 3.64/ 5.00 puntos equivalente a una leche con un sabor cercano a muy bueno, con un coeficiente de variación de 9.87 %, al someter los resultados experimentales al análisis de varianza no se encontró diferencias significativas entre los diferentes factores en estudio, en el gráfico 8, se indica el, sabor de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones..

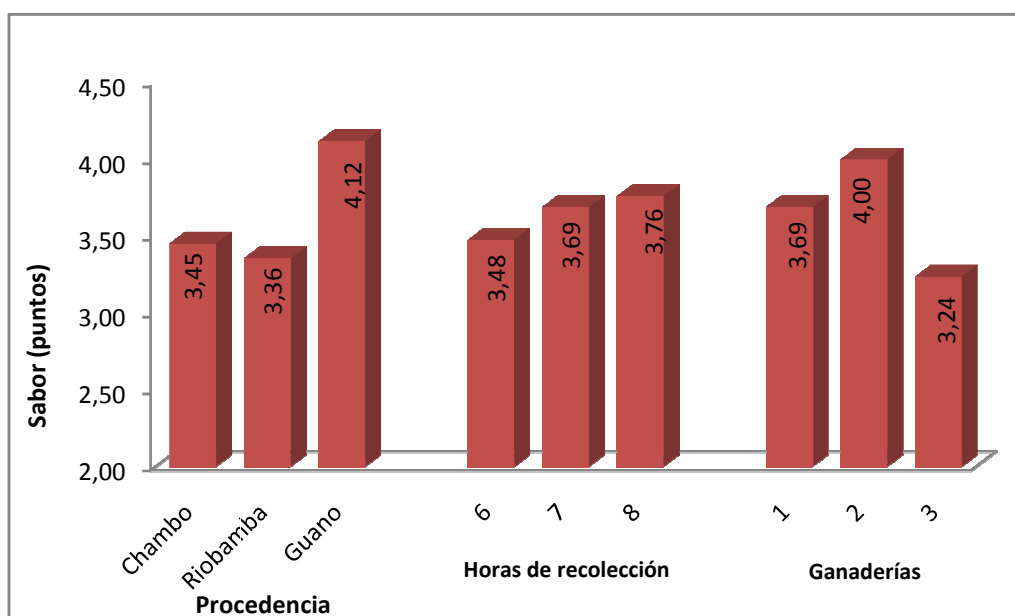


Gráfico 8. Sabor de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

4. Aceptabilidad (puntos)

La aceptabilidad de la leche recopilada en diferentes horas y tres ganaderías de los cantones de Chambo, Riobamba y Guano de la provincia de Chimborazo, según los catadores en promedio fue 3.57/ 5.00 puntos equivalente a una leche con un aceptabilidad aproximada a muy buena, con un coeficiente de variación de 7.02 %, al someter los resultados experimentales al análisis de varianza no se encontró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos.

5. Características organolépticas totales (puntos)

La leche recogida de las ganaderías del cantón Guano registro acumulo una aceptabilidad total de 16.36/20.00 puntos, el mismo que difiere significativamente ($P < 0.05$), de la leche analizada en Riobamba y Chambo puesto que recibieron un valor de 14.31 y 14.74, esto se debe a la acumulación de aceptabilidad en el color, olor sabor y aceptabilidad, en el gráfico 9 y 10, se indica la aceptabilidad y las características organolépticas de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

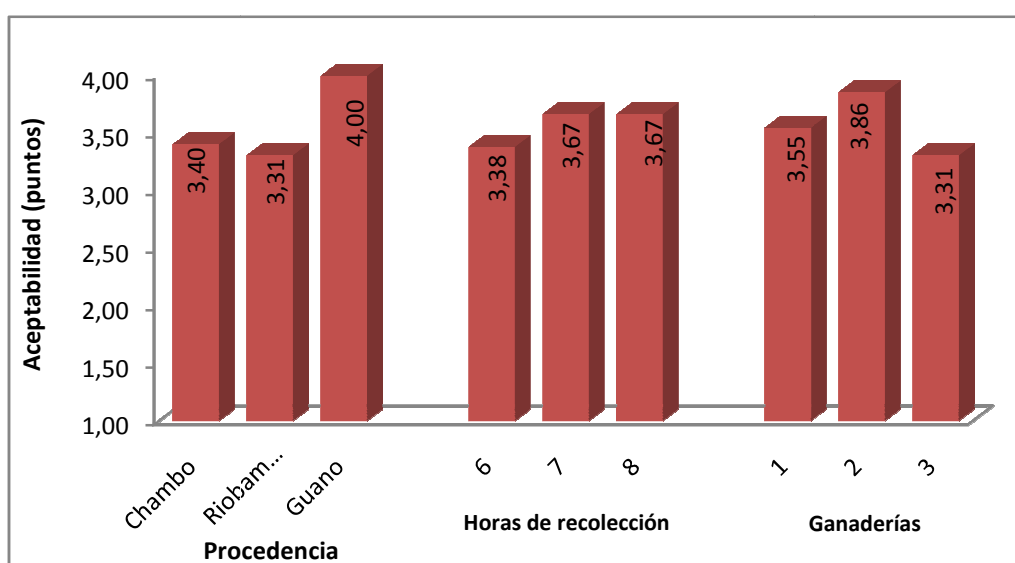


Gráfico 9. Aceptabilidad de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

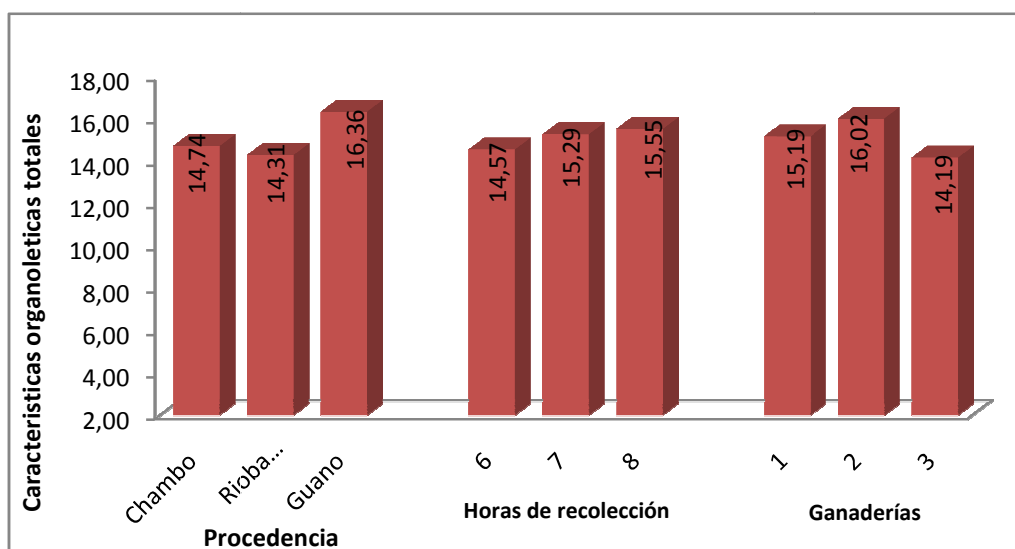


Gráfico 10. Características organolépticas totales de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

De la misma manera la leche receptada a las 7:00 AM acumularon 16.02 / 20.00 puntos, la misma que difiere significativamente de la leche receptada a las 6:00 y 8:00 AM puesto que acumularon 15.19 y 14.19 / 20 puntos, esto quizá se deba a que la leche recién ordeñada o almacenada dos horas después del ordeño, la aceptabilidad total de la leche se ve afectada, identificándose un término medio adecuado de aceptación de la leche cruda es transcurrido una hora.

E. PRECIO DE LA LECHE

1. El precio de la leche

El precio de la leche a nivel de finca en promedio registra un valor de 0.39 centavos con un coeficiente de variación de 20.74 %, al someter los resultados experimentales al análisis de varianza no se determinó diferencias estadísticas entre las diferentes procedencias, ganaderos y horas de recepción de las muestras, en el gráfico 11, se indican las características organolépticas totales de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

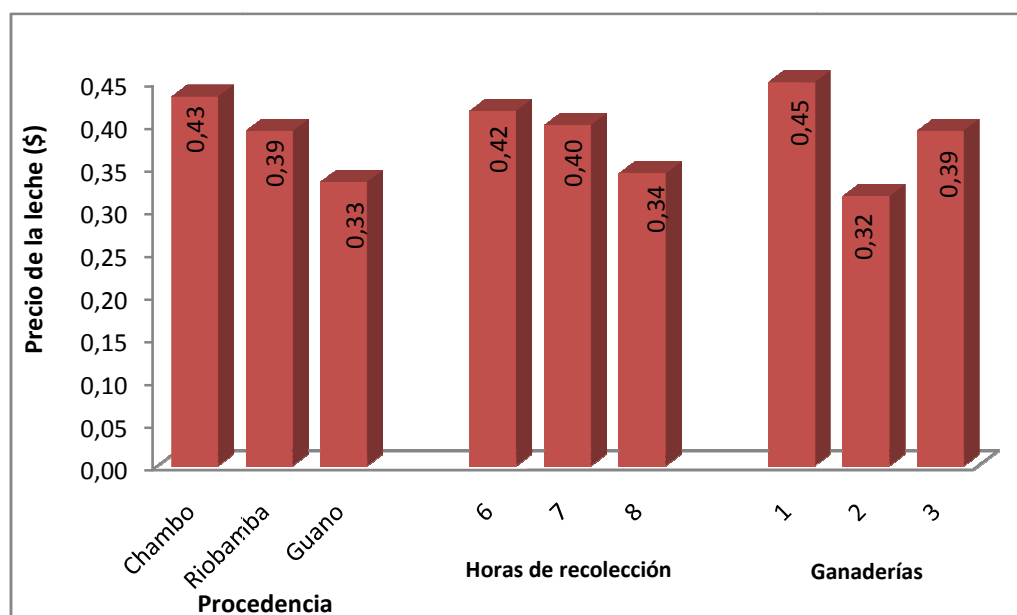


Gráfico 11. Características organolépticas totales de la leche recopilada en tres horas diferentes, tres ganaderías y tres cantones.

V. CONCLUSIONES

- La presencia de antibióticos y sulfonamidas en las vacas de las ganaderías de Riobamba y Guano en el mes de diciembre fue evidente en 33 y 67 % ganaderías respectivamente en el mes de enero en cambio se presentó en las ganaderías de Riobamba y Chambo (67% en cada una), y en el mes de febrero en las ganaderías de Chambo y Guano 33 %, por lo que es necesario someter a los ganaderos a un proceso de capacitación sobre la calidad de la leche y la presencia de residuos farmacológicos.
- La leche de las diferentes procedencias (Chambo, Riobamba y Guano), registran pH (6.46), inferior a los recomendados además reportan una densidad (1.029).
- La presencia de microorganismos en la leche cruda de las diferentes ganaderías de Chambo, Riobamba y Guano están sobre las normas INEN de la legislación Ecuatoriana en los meses de diciembre, enero y febrero puesto que registraron valores promedios de $8.35E+04$, $7.71E+04$ y $1.70E+05$ de Aerobios mesófilos y $6.60E+04$, $6.63E+04$ y $3.92E+04$ UFC/g.
- La aceptabilidad de la leche según los catadores corresponde la procedencia del cantón Guano puesto que se registró un valor de 16.06/20 puntos en leche concluyéndose que esta tiene una buena aceptación.
- El precio de la leche varía entre procedencias por tanto el precio se encuentra entre 33 y 49 centavos, esto se debe a la distancia de las fincas en donde se encuentra y a la capacidad de negociación de los comerciantes de leche a nivel de finca.

VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se recomienda:

- Capacitar a ganaderos en la utilización de fármacos y la presencia de residuos en la leche y carne bovina de animales tratados con diferentes tipos de productos farmacológicos.
- Evitar la utilización de la leche con residuos farmacológicos los mismos que hacen que disminuya las características organolépticas además de rendimiento productivo.
- La leche proveniente de las diferentes ganaderías se debe pasteurizar debido a la presencia de un alto contenido de microorganismos tanto coliformes totales y aerobios mesofilos.
- Investigar la presencia de diferentes fármacos como antihelmínticos, en la leche con un mayor número de muestras y su influencia en los consumidores de este tipo de productos.

VII. LITERATURA CITADA

1. ALVIAR, J. 2002. Manual Agropecuario Técnicas orgánicas de la granja integral auto-suficiente. sn. Bogotá, Colombia. Edit. Limerin. pp. 83 - 102; 120 – 135; 342 – 367.
2. BARATON, Y. 2006. Compagnie Laitiere Europeenne Production et services. Folleto Sanidad Alimenticia. Brussels, Belgium. pp. 26-28.
3. BENZUNCE, L. 1988. Determinación de antibióticos en la Campaña de Cajamarca. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Cajamarca. Perú. p. 48.
4. CARRION, A. 2008. INFLUENCIA DE LOS DIFERENTES GRADOS DE MASTITIS SOBRE EL PORCENTAJE DE MATERIA GRASA, DENSIDAD, ACIDEZ, PH Y REDUCTASA DE LECHE RECEPTADA EN LÁCTEOS SAN ANTONIO. Tesis de grado. Escuela de Ingeniería Zootécnica, Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
5. DIAZ, C. 2008. Determinación de residuos de antibióticos y sulfonamidas en seis marcas comerciales de leche de mayor consumo en la ciudad de Riobamba. Tesis de grado. Escuela de Ingeniería Zootécnica, Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
6. FRAZIER, W. 1999. Microbiología de la leche. sn. México, México. Edit. Herrero. p. 46.
7. HEESCHEN, W. BURT, R. Y BLÜTHGEN, A. 1997. Introduction and background information en: Monograph on Residues and Contaminants in Milk and Milk Products. IDF. Brussels, Belgium. p. 2.

8. HONKANEN, B. y REYBROECK, W. 1997. Antimicrobials, en Monograph on Residues and Contaminants in Milk and Milk Products. IDF. Brussels, Belgium. pp. 26-33.
9. <http://bilbo.edu.uy/~microbio/identificacion.html>. 2001. Valle, V. Microbiología de la leche.
10. http://es.wikipedia.org/wiki/Bacillus_stearothermophilus. 2007. Chávez, X. Métodos de inhibición bacteriana.
11. <http://es.wikipedia.org/wiki>. 2007. El Copan Milk Test.
12. <http://www.3m.com/cms/MX/es/0-253/kRecrFS/view.html>. 2006. Veloz, R. Residuos medicamentosos y plaguicidas.
13. http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D10134%2526SID%253D429,00.html. 2006. Residuos de antibióticos y sulfas en la leche.
14. <http://www.alfaeditores.com/carnilac/Dic%2004%20%20Enero%2005/Residuos%20de%20medicamentos.pdf>. 2007. Residuos de medicamentos en alimentos de origen animal.
15. <http://www.geocities.com/pcmlle/enmarcha1170.htm>. 2005. Geocities. Métodos de pasteurización.
16. <http://www.capoinnovation.com>. 2007. Boutilie, L. Copan Milk Test
17. <http://www.tecnovet.u.html>. 2006. Chavez, M. Procesos industriales lácteos.
18. JUDKINS, N. Y KEENER, H. 1994. La leche, su producción y sus procesos industriales. 2a. ed. México, México. Edit. Continental. pp. 35-48.
19. <http://www.zonadiet.com/bebidas/leche.htm>(<http://www.capoinnovation.com>. 2007).
20. MANUAL MERK DE VETERINARIA. 5a. ed. Barcelona, España. Edit. OCEANO. pp. 254-546.

21. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA. 2003. Leche Pasteurizada. Requisitos Tercera Revisión INEN. pp. 14-15.
22. OCAMPO, L. 2007. Alimentos de origen animal. Revista. Buenos Aires, Argentina. pp. 56-75.
23. ORTEGA, C. ESPINOSA, T. y LÓPEZ, C. 1994. El control de los riesgos para la salud generados por los plaguicidas organofosforados en México: Retos ante el Tratado de Libre Comercio. Revista Salud Pública de México, México. pp. 624-632.
24. ROBINSON, R. 1997. Microbiología Lactológica. 2a. ed. Zaragoza, España. Edit. Acribia. p. 106.
25. RUIZ, M. 1994. Diagnóstico de Mastitis en Hatos Lecheros. Tesis de Grado. FCP. ESPOCH. Riobamba, Ecuador. pp. 23-54.
26. SUHREN, G. Y HEESCHEN, W. 1996. Detection of inhibitors in milk by microbial test. A review. Nahrung. Dallas, Estados Unidos. pp. 1-7.
27. SUMANO, H. y OCAMPO, L. 1997. Farmacología Veterinaria. Segunda Edición. México, México. Edit. McGraw-Hill Interamericana, Healthcare Group. pp. 23-54.
28. VATIER, J. y POSTIGO, M. 1996. Revista Mundial de Zootecnia. México, México. pp. 26
29. VEISSEYRE, R. 1997. Lactología Técnica. 2a. ed. Zaragoza, España. Edit. Acribia. pp. 186,195, 214-227.
30. ROBINSON, R. 1997. Microbiología Lactológica. 2a. ed. Zaragoza, España. Edit Acribia. p. 106.
31. SANCHO, J. 2004. Análisis sensorial de los Alimentos.
32. WITTIG, E. 1981. Evaluación, una metodología actual para tecnologías de alimentos.

ANEXOS

Anexo 1. Antibióticos y sulfonamidas Diciembre de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Riobamba	33.00	0.00	0.00	0.33	0.58
Guano	0.00	33.00	33.00	0.67	0.58

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	2.00				
Ganaderías	2	0.67	0.33	1.00	19.00	99.00
Horas	2	0.00	0.00	0.00	19.00	99.00
Procedencias	2	0.67	0.33	1.00	19.00	99.00
Error	2	0.67	0.33			
CV %			173.21			
Media			0.33			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	0.00	a
Riobamba	0.33	a
Guano	0.67	a

Anexo 2. Antibióticos y sulfonamidas Enero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	33.00	0.00	33.00	0.67	0.58
Riobamba	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Guano	0.00	33.00	33.00	0.67	0.58

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	2.22				
Ganaderías	2	0.22	0.11	0.25	19.00	99.00
Horas	2	0.22	0.11	0.25	19.00	99.00
Procedencias	2	0.89	0.44	1.00	19.00	99.00
Error	2	0.89	0.44			
CV %			150.00			
Media			0.44			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	0.67	a
Riobamba	0.00	a
Guano	0.67	a

Anexo 3. Antibióticos y sulfonamidas febrero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	0.00	33.00	0.00	0.33	0.58
Riobamba	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Guano	0.00	33.00	0.00	0.33	0.58

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	1.56				
Ganaderías	2	0.22	0.11	1.00	19.00	99.00
Horas	2	0.89	0.44	4.00	19.00	99.00
Procedencias	2	0.22	0.11	1.00	19.00	99.00
Error	2	0.22	0.11			
CV %			150.00			
Media			0.22			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	0.33	a
Riobamba	0.00	a
Guano	0.33	a

Anexo 4. pH de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	6.40	6.50	6.70	6.53	0.15
Riobamba	6.60	6.30	6.40	6.43	0.15
Guano	6.50	6.30	6.40	6.40	0.10

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	0.14				
Ganaderías	2	0.04	0.02	0.84	19.00	99.00
Horas	2	0.04	0.02	0.84	19.00	99.00
Procedencias	2	0.03	0.01	0.68	19.00	99.00
Error	2	0.04	0.02			
CV %			2.25			
Media			6.46			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	6.53	a
Riobamba	6.43	a
Guano	6.40	a

Anexo 5. Densidad de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	1.030	1.029	1.027	1.029	0.00
Riobamba	1.030	1.026	1.031	1.029	0.00
Guano	1.027	1.031	1.029	1.029	0.00

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	0.00				
Ganaderías	2	0.00	0.00	16.00	19.00	99.00
Horas	2	0.00	0.00	0.14	19.00	99.00
Procedencias	2	0.00	0.00	0.14	19.00	99.00
Error	2	0.00	0.00			
CV %			0.09			
Media			1.03			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	1.03	a
Riobamba	1.03	a
Guano	1.03	a

Anexo 6. Aerobios Mesófilos UFC/g Diciembre de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	9.90E+04	1.60E+05	2.10E+05	1.56E+05	5.56E+04
Riobamba	3.40E+04	2.60E+04	6.00E+04	4.00E+04	1.78E+04
Guano	6.10E+04	7.70E+04	2.50E+04	5.43E+04	2.66E+04

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	3.24E+10				
Ganaderías	2	1.12E+09	5.61E+08	0.21	19.00	99.00
Horas	2	1.78E+09	8.88E+08	0.33	19.00	99.00
Procedencias	2	2.41E+10	1.21E+10	4.53	19.00	99.00
Error	2	5.33E+09	2.67E+09			
CV %			61.80			
Media			83555.56			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	156333.33	a
Riobamba	40000.00	a
Guano	54333.33	a

Anexo 7. Aerobios Mesófilos UFC/g Enero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	7.60E+04	1.40E+05	1.90E+05	1.35E+05	5.71E+04
Riobamba	2.80E+04	4.10E+04	6.20E+04	4.37E+04	1.72E+04
Guano	5.80E+04	6.80E+04	3.10E+04	5.23E+04	1.91E+04

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	2.32E+10				
Ganaderías	2	1.67E+09	8.35E+08	0.47	19.00	99.00
Horas	2	2.60E+09	1.30E+09	0.72	19.00	99.00
Procedencias	2	1.54E+10	7.68E+09	4.29	19.00	99.00
Error	2	3.58E+09	1.79E+09			
CV %			54.90			
Media			77111.11			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	135333.33	a
Riobamba	43666.67	a
Guano	52333.33	a

Anexo 8. Aerobios Mesófilos UFC/g Febrero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	6.20E+05	2.20E+05	4.30E+05	4.23E+05	2.00E+05
Riobamba	4.10E+04	5.20E+04	5.70E+04	5.00E+04	8.19E+03
Guano	4.80E+04	5.60E+04	4.60E+03	3.62E+04	2.77E+04

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	3.71E+11				
Ganaderías	2	3.66E+10	1.83E+10	1.76	19.00	99.00
Horas	2	2.44E+10	1.22E+10	1.17	19.00	99.00
Procedencias	2	2.89E+11	1.45E+11	13.94	19.00	99.00
Error	2	2.08E+10	1.04E+10			
CV %			6.00E+01			
Media			1.70E+05			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	423333.33	a
Riobamba	50000.00	a
Guano	36200.00	a

Anexo 9. Coliformes totales UFC/g diciembre de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	8.50E+04	1.45E+05	1.95E+05	1.42E+05	5.51E+04
Riobamba	3.10E+04	3.10E+04	9.80E+03	2.39E+04	1.22E+04
Guano	3.10E+04	6.40E+04	2.00E+03	3.23E+04	3.10E+04

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	3.42E+10				
Ganaderías	2	1.81E+09	9.03E+08	0.36	19.00	99.00
Horas	2	1.48E+09	7.40E+08	0.30	19.00	99.00
Procedencias	2	2.59E+10	1.29E+10	5.17	19.00	99.00
Error	2	5.00E+09	2.50E+09			
CV %			7.58E+01			
Media			6.60E+04			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	141666.67	a
Riobamba	23933.33	a
Guano	32333.33	a

Anexo 10. Coliformes totales UFC/g Enero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	7.10E+04	1.10E+05	1.70E+05	1.17E+05	4.99E+04
Riobamba	3.00E+04	3.20E+04	4.60E+04	3.60E+04	8.72E+03
Guano	3.60E+04	6.00E+04	4.20E+04	4.60E+04	1.25E+04

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	1.71E+10				
Ganaderías	2	7.65E+08	3.82E+08	0.34	19.00	99.00
Horas	2	2.44E+09	1.22E+09	1.10	19.00	99.00
Procedencias	2	1.17E+10	5.85E+09	5.25	19.00	99.00
Error	2	2.23E+09	1.11E+09			
CV %			5.03E+01			
Media			6.63E+04			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	117000.00	a
Riobamba	36000.00	a
Guano	46000.00	a

Anexo 11. Coliformes totales UFC/g Febrero de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	7.40E+04	7.10E+04	6.20E+04	6.90E+04	6.24E+03
Riobamba	2.90E+04	3.50E+04	4.30E+04	3.57E+04	7.02E+03
Guano	3.30E+04	3.90E+03	1.50E+03	1.28E+04	1.75E+04

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	5.58E+09				
Ganaderías	2	1.41E+08	7.06E+07	0.30	19.00	99.00
Horas	2	1.74E+08	8.68E+07	0.36	19.00	99.00
Procedencias	2	4.79E+09	2.40E+09	10.05	19.00	99.00
Error	2	4.77E+08	2.38E+08			
CV %			3.94E+01			
Media			3.92E+04			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	69000.00	a
Riobamba	35666.67	a
Guano	12800.00	a

Anexo 12. Color (puntos) de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	4.07	4.29	4.43	4.26	0.18
Riobamba	4.21	4.21	4.00	4.14	0.12
Guano	4.14	4.07	4.57	4.26	0.27

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	0.27				
Ganaderías	2	0.15	0.08	4.75	19.00	99.00
Horas	2	0.06	0.03	1.86	19.00	99.00
Procedencias	2	0.03	0.01	0.89	19.00	99.00
Error	2	0.03	0.02			
CV %			2.98			
Media			4.22			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	4.26	a
Riobamba	4.14	a
Guano	4.26	a

Anexo 13. Olor (puntos) de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	3.57	3.71	3.57	3.62	0.08
Riobamba	3.36	3.71	3.43	3.50	0.19
Guano	3.79	3.79	4.36	3.98	0.33

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	0.67				
Ganaderías	2	0.07	0.03	0.44	19.00	99.00
Horas	2	0.08	0.04	0.48	19.00	99.00
Procedencias	2	0.37	0.18	2.34	19.00	99.00
Error	2	0.16	0.08			
CV %			7.59			
Media			3.70			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	3.62	a
Riobamba	3.50	a
Guano	3.98	a

Anexo 14. Sabor (puntos) de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	2.64	4.00	3.71	3.45	0.72
Riobamba	3.64	3.21	3.21	3.36	0.25
Guano	4.14	3.86	4.36	4.12	0.25

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	2.31				
Ganaderías	2	0.88	0.44	3.41	19.00	99.00
Horas	2	0.13	0.07	0.51	19.00	99.00
Procedencias	2	1.03	0.52	4.00	19.00	99.00
Error	2	0.26	0.13			
CV %			9.87			
Media			3.64			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	3.45	a
Riobamba	3.36	a
Guano	4.12	a

Anexo 15. Aceptabilidad (puntos) de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	2.79	3.86	3.57	3.40	0.55
Riobamba	3.50	3.21	3.21	3.31	0.16
Guano	3.86	3.93	4.21	4.00	0.19

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	1.58				
Ganaderías	2	0.45	0.23	3.59	19.00	99.00
Horas	2	0.16	0.08	1.30	19.00	99.00
Procedencias	2	0.84	0.42	6.68	19.00	99.00
Error	2	0.13	0.06			
CV %			7.02			
Media			3.57			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	3.40	a
Riobamba	3.31	a
Guano	4.00	a

Anexo 16. Total (puntos) de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	13.07	15.86	15.29	14.74	1.47
Riobamba	14.71	14.36	13.86	14.31	0.43
Guano	15.93	15.64	17.50	16.36	1.00

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	13.70				
Ganaderías	2	5.06	2.53	44.59	19.00	99.00
Horas	2	1.53	0.77	13.51	19.00	99.00
Procedencias	2	7.00	3.50	61.72	19.00	99.00
Error	2	0.11	0.06			
CV %			1.57			
Media			15.13			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	14.74	ab
Riobamba	14.31	b
Guano	16.36	a

Anexo 17. Precio leche de las diferentes fincas de la provincia de Chimborazo.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Procedencias	Horas			Media	Desvest
	6	7	8		
Chambo	0.50	0.40	0.40	0.43	0.06
Riobamba	0.30	0.50	0.38	0.39	0.10
Guano	0.45	0.30	0.25	0.33	0.10

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	8	0.06				
Ganaderías	2	0.03	0.01	2.09	19.00	99.00
Horas	2	0.01	0.00	0.69	19.00	99.00
Procedencias	2	0.02	0.01	1.18	19.00	99.00
Error	2	0.01	0.01			
CV %			20.74			
Media			0.39			

SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY AL 5 %

Procedencias	Media	Rango
Chambo	0.43	a
Riobamba	0.39	a
Guano	0.33	a