

“ANÁLISIS DE CONTAMINACIÓN DE LA LECHE POR ANTIBIÓTICOS EN LA CUENCA LECHERA DE CHIPILO Y ATLIXCO PUÉBLA”

Hidalgo, L. Josué.^{1*} Rodríguez, H. José Víctor.²

1. - P.M.V.Z. BUAP (Email: joshari_k@hotmail.com)

2.- Colegio de Postgraduados Campus Puebla.

Resumen: El uso de antibióticos para la prevención, tratamiento y control de enfermedades en el ganado lactante, ha propiciado un incremento mundial de la producción lechera, pero su manejo inadecuado trae como resultado la contaminación de la leche con residuos de los mismos, lo cual representa un serio problema para la salud pública y la industria láctea. La presencia de residuos de antibióticos, generan una alteración en la composición y en las características organolépticas de la leche, lo cual tiene como consecuencia la pérdida de la inocuidad alimentaria. Puebla es uno de los principales estados productores de leche de vaca, que no está atendiendo esta problemática en cuanto a la presencia de residuos de antibióticos en leche, así mismo como los daños que se generan a la salud pública.

El propósito de este trabajo fue determinar la presencia de residuos de antibióticos en leche cruda de 6 establos de la cuenca lechera de chipilo y Atlixco Puebla.

Se analizaron 120 muestras en total usando como método, el principio de acidificación de la leche por parte de la bacteria *Bacillus stearothermophilus* var. *Calidolactis*, la cual es una prueba de inhibición de crecimiento bacteriológico con una alta sensibilidad a la detección de una gran variedad de antibióticos.

Los resultados encontrados muestran un total de 36 (30%) muestras positivas a residuos de antibióticos, las restantes 84 (70%) fueron negativas. El uso de antibióticos en leche manifiesta problemas a la salud pública causando reacciones alérgicas, intoxicaciones y resistencia bacteriana al consumir leche contaminada con dosis subterapéuticas.

Palabras Clave: inocuidad, antibióticos, residuos, calidad, resistencia.

1 *. - P.M.V.Z. BUAP. Calle Nacional, privada Apanacas, #5 San Francisco Ocotlan, Coronango Puebla. Codigo postal 72680. Cel: 22-25-35-69-48 Email: joshari_k@hotmail.com

Introducción

La leche es un producto universal que por su elevado valor nutritivo y alta digestibilidad es de gran importancia en la alimentación humana. Por tal razón su control higiénico-sanitario debe realizarse en forma cuidadosa por las instancias competentes (Sumano y Ocampo, 1995).

El uso de antibióticos como agentes quimioterapéuticos, es a causa de una gran variedad de enfermedades que afectan al ganado lechero, en las cuales encontramos a la mastitis, la cual es una enfermedad que causa cuantiosas pérdidas económicas, por el uso de tratamientos a base de antimicrobianos y bajas constantes en la producción. Se estima que el 26.5% de las vacas sacrificadas en el continente americano se atribuye a trastornos ocasionados por la mastitis (**Wolter et al.**, 2004).

En los hatos lecheros, la infección que demanda mayor suministro de antibióticos es la mastitis, y debido a que los antibióticos de uso intramamario son de fácil aplicación y generalmente baratos, el productor no hace la consulta respectiva al médico veterinario, constituyéndose en la principal causa de aparición de residuos de antibióticos en la leche.

El impacto de la mastitis va junto con la leche, más allá de las puertas de la explotación lechera. Los cambios en la composición de la leche (reducción de calcio, fósforo, proteína y grasa, e incrementos de cloro y sodio) reducen la calidad e inocuidad, así como se alteran todas las características organolépticas de la misma (Dániza M. y col 2009).

Además, los antibióticos utilizados en el tratamiento de la mastitis son una preocupación industrial y de salud pública importante, ya que la presencia de residuos de antibióticos en la leche interfiere con el proceso de fabricación de muchos productos lácteos (quesos y otros productos fermentados). Los sabores indeseables reducen el valor de los productos lácteos y la presencia de bajos niveles de antibióticos pueden causar problemas de salud a los consumidores (Carreto, 2005).

Al ganadero le es muy difícil eliminar leche producida por vacas con tratamiento por mastitis, pues le representa pérdida económica, por ello incurre en la práctica inadecuada de comercializarla, derivándola a la industria de leche fluida pasteurizada o esterilizada y a los mercados como leche cruda o en mezcla con leche de buena calidad, para que no sea posible detectarla y que sus deficiencias pasen desapercibidas.

Se ha demostrado que después de la administración de cualquier tratamiento veterinario, los residuos del medicamento aparecen en los productos comestibles obtenidos de los animales tratados. Los residuos de antimicrobianos en los alimentos, especialmente antibióticos, producen numerosos problemas en el humano, siendo el de mayor importancia la aparición de resistencia múltiple en bacterias patógenas al ser sometidas a bajas concentraciones sub-terapéuticas, lo cual representa un peligro potencial para la salud del consumidor y además, para la industria láctea, ya que los cultivos iniciadores empleados en la producción de derivados lácteos fermentados, tales como queso y yogurt, son extremadamente sensibles a bajas concentraciones de antibióticos en la leche.

Algunos antibióticos como la penicilina, estreptomina, tetraciclina y eritromicina, son frecuentemente usados en el tratamiento de enfermedades infecciosas en los animales domésticos, también se utilizan para mejorar el rendimiento productivo de estos, por lo que, en años recientes, se han convertido en una preocupación para los investigadores por su uso indiscriminado, haciéndose necesaria su detección e identificación en los

productos y subproductos de origen animal destinados al consumo humano (Gutiérrez, *et al*, 2005).

Es un hecho que la resistencia a los antimicrobianos se está incrementando en todo el mundo, pero sobre todo en países en desarrollo donde el uso de antibióticos es indiscriminado.

El consumo antibiótico β -lactámicos puede producir reacciones adversas como: erupciones maculopapulares, urticaria, fiebre, broncoespasmo, vasculitis, dermatitis exfoliativa, síndrome de Stevens-Johnson y anafilaxia (Goodman y Gilman, 2007).

En el ser humano las tetraciclinas ejercen su efecto sobre un número grande de bacterias gram positivas y negativas, aerobias y anaerobias, micoplasmas, rickettsias, clamidias y espiroquetas, que frecuentemente originan resistencia. Las reacciones adversas consisten en irritaciones digestivas por administración oral: molestia por dolor epigástrico y abdominal, náuseas, vómitos y diarreas. También pueden producir fotosensibilidad por exposición cutánea al sol, toxicidad hepática o renal. En niños que reciben dosis elevadas por períodos de tiempo corto o largo pueden producir manchas oscuras en los dientes. Es posible que deprima el crecimiento óseo en lactantes prematuros, con efecto reversible si la exposición fue breve (Dániza M. y col 2009).

En México las autoridades sanitarias suelen desatender en sus programas de control los efectos nocivos a largo plazo que pueden presentar muchas sustancias y esto favorece su uso ilegal e indiscriminado. Mientras en otros países tienen aproximadamente 40 años con programas oficiales de control de residuos, en los alimentos., En México son prácticamente inexistentes y por desgracia el nivel técnico-científico cuando menos a lo que a residuos se refiere, es poco estudiado (Acacia *et al.*, 2001).

Así mismo en el estado de Puebla no hay información acerca de la cantidad de residuos de antibióticos presentes en la leche comercializada.

El objetivo del presente estudio fue determinar los residuos de antibióticos en leche de vacas de la cuenca lechera de Chipilo y Atlixco Puebla.

Materiales y métodos

Descripción del área de estudio

La localidad de Chipilo se localiza en la parte centro- oeste del estado de Puebla. Sus coordenadas geográficas son los paralelos 19°19´18" y 98°22´24" de longitud occidental, con una mediana altura sobre el nivel del mar (msnm) de 1240 metros. Así mismo cuenta con un clima templado subhúmedo con lluvias en verano. (Enciclopedia de los municipios de México, 1999).

El municipio de Atlixco se localiza en la parte centro Oeste del estado de Puebla. Tiene una altitud promedio de 1840m sobre el nivel del mar. Sus coordenadas geográficas son los paralelos 18° 49` 30" y 18° 58` 30" de latitud norte y los meridianos 98° 18` 24" y 98° 33` 36" de longitud occidental. El municipio colinda al Norte con el municipio de Tanguismanalco, al Noreste con los municipios de Santa Isabel Cholula y Ocoyucan, al Suroeste con el municipio de Atzitzihuacan, al Sur con los municipios de Huaquechula y Tepeojuma, Sureste con el municipios de San Diego la Meza Tochimiltzingo, al Este con la Ciudad de Puebla, y al Oeste con el municipio de Tochimilco.

Tamaño y distribución de la muestra

El estudio se realizó en los municipios de Chipilo y Atlixco Puebla con muestreo simple aleatorio.

El tamaño de la muestra fue determinado mediante la fórmula descrita por Wayne, (1999).

$$n = \frac{z^2 p}{E^2}$$

Donde, para el tamaño de la muestra ($n= 120$), el nivel de confianza (z) fue del 95 %, con un error máximo tolerable (E) de 0.07 y una prevalencia esperada (p) del 20 %.

La distribución de las muestras se realizó de manera proporcional entre los 6 establos muestreados, de la región de Chipilo y Atlixco.

El número de establos se determinó en base a la disponibilidad de los ganaderos que accedieron a colaborar para el presente estudio.

En la cuenca lechera de Atlixco solo quedan en la actualidad 5 establos, y en Chipilo el número de establos es mayor, pero se homogenizaron las muestras en base a los permisos establecidos por los ganaderos

Tabla 1. Numero de establos muestreados en la cuenca lechera de Chipilo y Atlixco.

Establos muestreados de Chipilo y Atlixco.	Numero de muestras.
Establo 1	20
Establo 2	20
Establo 3	20
Establo 4	20

Establo 5	20
Establo 6	20

Obtención y procesamiento de las muestras

La leche se colecto directamente de la ubre de las vacas, colectando 10 ml, de leche por vaca de cada establo muestreado.

Posteriormente todas las muestras fueron refrigeradas en una hielera para su conservación y transporte al laboratorio Ciencia y Tecnología Aplicada S.A. de C.V (www.cytalabs.com).

Prueba en el laboratorio

A las muestras de leche se les realizó la prueba estándar de inhibición de crecimiento bacteriológico cuya aplicación ha sido determinada en la leche de vaca, por medio de su coloración en diversos trabajos.

El test utilizado es un método microbiológico basado en el crecimiento del *Bacillus stearothermophilus* (var. *Calidolactis*) en ausencia de β -lactámicos y es visualmente clasificado dentro de 3 categorías: negativa, errónea, y positiva, comparado con los colores del positivo y negativo de muestras estándares (Althaus, et al 2003).

Descripción de la prueba

1 *. - P.M.V.Z. BUAP. Calle Nacional, privada Apanacas, #5 San Francisco Ocotlan, Coronango Puebla.
Codigo postal 72680. Cel: 22-25-35-69-48 Email: joshari_k@hotmail.com

El test es un sistema de prueba de residuo de antibiótico de amplio espectro que ofrece la posibilidad de verificar la presencia de una multitud de diferentes sustancias antimicrobianas en leche por su alta sensibilidad de detección. Sin embargo, aparte de las sensibilidades especificadas para la Penicilina G y Sulfadiazina, un número sustancial de otros antibióticos y sustancias inhibitorias pueden ser detectados a cerca de los niveles tales como aquellos definidos por el Nivel Máximo de Residuo (MRL).

- ❖ La prueba más sensible de todas.
- ❖ Basada en el cultivo de una bacteria que acidifica la leche.
- ❖ *Stearothermophilus calidolactis*.
- ❖ Micro cultivo a alta temperatura y de rápido crecimiento.
- ❖ Temperatura de 64° C +- 2°
- ❖ Tiempo de incubación 3Hs. +- 15 min.
- ❖ Sensibilidad a todos los antibióticos.

Principio del test

- El principio es la acidificación de la leche por parte del *Bacillus stearothermophilus* (var. *Calidolactis*)
- El micro cultivo está en el pequeño vial que contiene una sustancia que vira el color según el pH a que sea sometido.
- Si el sustrato (muestra de leche) contiene substancias inhibitorias el cultivo muere y no acidifica la leche.
- En este caso no hay cambio de color en la prueba permaneciendo de color purpura.
- Se interpreta como positivo a antibiótico en leche.
- Si el sustrato no contiene antibiótico la bacteria *Bacillus stearothermophilus* (var. *Calidolactis*) continúa su metabolismo acidificando la lactosa presente en la muestra.

- Este ácido producido vira el indicador del cultivo a color amarillo.
- En este caso indica negativo a la presencia de antibiótico.

Equipo requerido:

- ◆ Incubadora
- ◆ Viales con cultivo
- ◆ Pastillas del cultivo
- ◆ Pinzas
- ◆ Tijeras
- ◆ Jeringa calibrada
- ◆ Puntas para toma de muestra
- ◆ Recipientes para muestra
- ◆ Recipientes para diluciones

Figura 1. Procesamiento de la muestra foto instrucciones Delvotest®



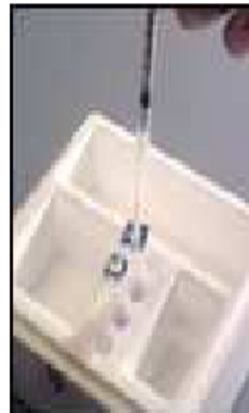
1. Cortar con las tijeras el número requerido de ampollitas. Tener cuidado de no dañar la lámina de aluminio de las ampollitas restantes.



2. Abrir la ampollita(s) perforando la lámina de aluminio con la jeringa. Marque las ampollitas para la identificación de la muestra.



3. Colocar una punta de plástico desechable a la jeringa. Oprima al émbolo completamente, introducir la punta en la muestra de leche y permita al émbolo regresar despacio bajo la presión del resorte.



4. Vaciar la jeringa en la ampollita correspondiente oprimiendo lentamente el émbolo de la jeringa. Use una punta de plástico nueva para cada muestra de leche.



5. Compruebe la temperatura de la incubadora ($64^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$). Ponga la ampollita(s) en la incubadora. Registre el tiempo y ponga el timer para 3 horas o use el tiempo control.



6. Lea el color de las 2/3 parte mas bajas del agar sólido en la ampollita(s) después del tiempo de incubación requerido.



Análisis estadístico.

Los datos se procesaron mediante estadística descriptiva, reportándose los promedios y porcentajes en cuadros utilizando el paquete estadístico Statistical Package for the Social Science (SPSS)

Resultados y discusión

Como se observa en la tabla, se analizaron 120 muestras de leche cruda en la cuenca lechera de Chipilo y Atlixco Puebla, de las cuales, 36 resultaron positivas, representando el 30% mientras que las 84 muestras restantes (70%) fueron negativas. De esta manera se confirma que existe un porcentaje significativo en residuos de antibióticos.

Tabla 2.- Detección de residuos de antibióticos en leche cruda de la cuenca lechera de Chipilo y Atlixco Puebla.

Establo	No. Muestras	Muestras positivas	%	Muestras negativas	%
1	20	12	14.4	8	9.6
2	20	8	9.6	12	14.4
3	20	3	3.6	17	20.4

1 * . - P.M.V.Z. BUAP. Calle Nacional, privada Apanacas, #5 San Francisco Ocotlan, Coronango Puebla. Codigo postal 72680. Cel: 22-25-35-69-48 Email: joshari_k@hotmail.com

4	20	4	4.8	16	19.2
5	20	4	4.8	16	19.2
6	20	5	6	15	18

El nivel de contaminación de leche cruda con residuos de antibióticos del 30% obtenidos en la presente investigación, resulta perjudicial para la salud humana, así lo corrobora Veisseyre (1980), quien afirma que la ingestión de leche con penicilina puede provocar una antibioresistencia con infecciones ulteriores complicadas en los lactantes que la ingieren. De igual modo, se encuentran marcadas diferencias con los reportes de technical management communications (1991), en Grecia y Dinamarca donde 2,0 y 0,0035% de muestras de leche son positivas a residuos de antibióticos. Estos resultados son inferiores a los nuestros, debido, entre otros factores, al control estricto y a las condenas y/o castigos impuestos a la leche contaminada en dichos países. Así mismo los criterios de rechazo y/o castigo de la leche con antibióticos en países como Alemania es considerada no detectable. En Bélgica, la penicilina a menos de 0,004 mg/ml, España rechaza con 0,004 mg/ml.

Conclusiones

De las 120 muestras se encontró un 30% con residuos de antibióticos, lo que significa que el productor no respeta los tiempos de retiro, después de tratar las diferentes patologías que presenta el ganado bovino. Así mismo el consumo de leche contaminada genera un gran daño a la salud pública, lo cual provocara resistencia bacteriana en enfermedades de los infantes.

Literatura citada

1 *. - P.M.V.Z. BUAP. Calle Nacional, privada Apanacas, #5 San Francisco Ocotlan, Coronango Puebla. Codigo postal 72680. Cel: 22-25-35-69-48 Email: joshari_k@hotmail.com

Althaus, R. L., A, Torres., A, Montero., S, Balasch., M, Molina. 2003. Detection Limits of Antimicrobials in Ewe Milk by Delvotest Photometric Measurements. J. Dairy Sci., 2003, vol. 86, n° 2, p.457-4.

Carreto L. 2005. Impacto de la presencia de antibióticos en leche. Procedente del 5º Taller Panamericano de Laboratorios Lácteos; Colonia Suiza, Montevideo; Nov. 2005 1-5.

Dániza M., A Guerrero., R Motta., G Gamarra., R Benavides., M Roque., E María., y S Salazar., 2009. Detección de residuos de antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas en leche cruda comercializada en el callao. *Ciencia e Investigación*; 12(2): 79-82 *Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM 2009.*

Goodman y Gilman. Bases Farmacológicas de la 3. Terapéutica. 11ª ed. Editorial Mc Graw Hill. NY, 2007.

Gutiérrez, R. T., M Noa., G Díaz., S Vega., M González., G Prado. Determination of the presence of 10 antimicrobial residues in Mexican pasteurized milk. *Interciencia*, mayo 2005, vol.30, n° 5, p. 291-294.

Noa E., M. Noa., D González., P Landeros., y W Reyes.2009. Evaluación de la presencia de residuos de antibióticos y quimioterapéuticos en leche en Jalisco, México. *Rev Salud Anim.* v.31 n.1 La Habana ene.-abr. 2009.

Ramírez A, R. Gutiérrez, C González, I Escobar, G. Castro, G. Díaz y M. Noa 2001. Detección de antibióticos en leche comercializada en la ciudad de México *De la Revista: Rev. Salud Anim.* Vol. 23 No. 1 (2001): 37-41

Sumano, L. H., Ocampo, C. L.1995. Bases farmacológicas de la vigilancia de residuos de fármacos en productos de origen animal. *Vet. Mex.* 1995, vol. 26, n° 3, p. 175-181

Wayne, W. D. 1999.: *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud.* 3ª. Edic. Edit. Limusa. México D.F.

Wolter, w., H, Castañeda., B Kloppert., M Zschock. 2004. Mastitis Bovina. Prevencion, diagnóstico y tratamiento. Mastitis Bovina. Editorial Universitaria. Universidad de Guadalajara, Jalisco.16, 62-72.