



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE CUENCA

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS SULFONAMIDAS EN CARNE AVIAR DE
MERCADOS MEDIANTE PRUEBA DE ELISA CUANTITATIVA

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Médico Veterinario Zootecnista

AUTOR: FAUSTO GIANCARLO ALVARADO CAJAMARCA

TUTOR: DR. FROILÁN PATRICIO GARNICA MARQUINA

Cuenca - Ecuador

2022

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Yo, Fausto Giancarlo Alvarado Cajamarca con documento de identificación N° 0302019179,
manifiesto que:

Soy autor y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad
Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el
presente trabajo de titulación.

Cuenca, 20 de mayo del 2022

Atentamente,



Fausto Giancarlo Alvarado Cajamarca

0302019179

CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Yo, Fausto Giancarlo Alvarado Cajamarca con documento de identificación N° 0302019179, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy el autor del Trabajo Experimental: “Determinación de antibióticos sulfonamidas en carne aviar de mercados mediante prueba de ELISA cuantitativa”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Médico Veterinario Zootecnista, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 20 de mayo del 2022

Atentamente,



Fausto Giancarlo Alvarado Cajamarca

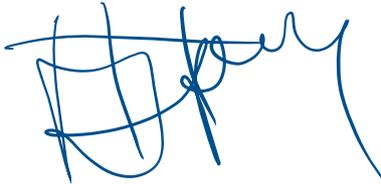
0302019179

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Froilán Patricio Garnica Marquina con documento de identificación N° 0101650299, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS SULFONAMIDAS EN CARNE AVIAR DE MERCADOS MEDIANTE PRUEBA DE ELISA CUANTITATIVA, realizado por Fausto Giancarlo Alvarado Cajamarca con documentación N° 0302019179, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental, que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 20 de mayo del 2022

Atentamente,



Dr. Froilán Patricio Garnica Marquina, MSc

0101650299

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo se lo quiero dedicar a mi familia, ya que sin ellos este objetivo no habría sido posible.

A mi mamá Ruth por siempre esperarme en casa con una sonrisa que me animaba a seguir viajando todos los días para recibir mis clases y enseñarme que la vida es una cuestión de perspectiva ya que siempre la felicidad esta en las cosas más sencillas, a mi Papá Melvin por siempre apoyar todas mis decisiones y creer en mi ciegamente, por siempre darme un consejo cuando lo necesitaba y por los valores que me ha reflejado en su diario vivir. A mi hermano Rafael por ser el apoyo fundamental en casa y por impulsarme a seguir mejorando para ser un digno ejemplo para su vida.

Quisiera dedicar este trabajo a mucha gente que me ha inspirado para ser lo que hoy en día he conseguido, pero estoy seguro que me faltarían las líneas para nombrarlos, por ello únicamente digo que los llevo en el corazón para siempre.

AGRADECIMIENTO

Es importante agradecer a todas las personas con las que he convivido durante mi estancia Universitaria, desde compañeros y amigos del aula, colegas de ciclos diferentes, docentes tanto de Medicina Veterinaria como de otras carreras, personal administrativo y de servicio, a mis compañeros de directiva FEUPS 2019-2021 de Carrera y a la directiva de FEUPS 2019-2021 de Sede.

De manera especial al Dr. Patricio Garnica director de carrera de Medicina Veterinaria por su conocimiento compartido y por aceptar ser el tutor de mi trabajo de titulación.

Finalmente agradezco a todos los miembros del Consejo de Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia por siempre permitirme, como representante estudiantil, llevar a cabo los proyectos e ideas que se han planteado desde los estudiantes, siendo mi persona vocero de las/los mismos.

Pretendo que la gratitud sea una práctica permanente en mi vida, por ello, mi manera de agradecer será siempre estar a sus órdenes. Como un acto de reciprocidad, cuenten con mi persona como amigo y como profesional, así como algún día yo conté con cada uno de ustedes.

INDICE

RESUMEN	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUCCIÓN	14
1.1 Problema	15
1.2 Delimitación	15
1.2.1 Temporal	15
1.2.2 Espacial	15
1.2.3 Ubicación	16
1.3 Explicación del problema	17
1.4 Objetivos	17
1.4.1 General	17
1.4.2 Específicos	17
1.5 Hipótesis	18
1.5.1 Hipótesis Alternativa	18
1.5.2 Hipótesis Nula	18

1.6 Fundamentación teórica.....	18
2. REVISIÓN, ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL.....	19
2.1 Avicultura en el Ecuador.....	19
2.2 Pollo Broiler.....	19
2.3 Carne de Pollo.....	20
2.4 Población y Mercados en Cuenca.....	20
2.5 Sulfonamidas.....	21
2.6 Resistencias Antimicrobianas.....	21
2.7 Consumo de Carne aviar en el Ecuador.....	22
2.8 Profilaxis de Infecciones.....	22
2.9 Análisis de Elisa.....	23
2.10 Codex Alimentarius.....	23
2.11 Límites de uso de Sulfonamidas.....	23
2.12 Resumen del estado de arte de resumen del problema.....	24
3.MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1.1 Materiales Físicos.....	25
3.1.2 Materiales Químicos.....	26
3.2 Población y Muestra.....	26
3.2.1 Selección de la Muestra.....	26
3.3 Procesamiento de muestras.....	27
3.4 Operacionalización de Variables.....	33

3.4.1 Variables Dependientes	33
3.4.2 Variables Independientes	34
3.5 Consideraciones éticas	34
3.6 Metodología	35
3.7 Ecuación para la transformación de datos	35
4. RESULTADO Y DISCUSIÓN	37
4.1 Resultados de la Investigación	37
4.2 Estadística	42
5. DISCUSIONES	43
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
6.1 Conclusiones	44
6.2 Recomendaciones	45
8. Bibliografía	46
7. ANEXOS	51

Índice de tablas

Tabla 1. Materiales físicos	25
Tabla 2 Materiales químicos	26
Tabla 3 Variables Dependientes	33
Tabla 4 Variables independientes	34
Tabla 5 Resultados de la Investigación de Sulfonamidas en carne	37
Tabla 6 Resultados de Análisis de Muestras.....	51
Tabla 7 Datos Obtenidos de las muestras en el Mercado Feria Libre	55
Tabla 8 Datos Obtenidos en el mercado 12 de Abril	56
Tabla 9 Datos obtenidos del mercado 10 de Agosto.....	58
Tabla 10 Valores de Absorbancia.....	61

Índice de Figuras

Figura 1 Universidad Politecnica Salesiana Cuenca.....	16
Figura 2 Ecuación utilizada para transformación de datos.	36
Figura 3 Porcentaje de muestras que superan el LMR en feria libre	38
Figura 4 Porcentaje de muestras que superan el LMR en Mercado 12 de Abril	39
Figura 5 Porcentaje de muestras que superan el LMR en mercado 10 de Agosto	40
Figura 6 Porcentaje de presencia de sulfonamidas sobre el LMR en todo el estudio	41
Figura 7 Colocación de solución stop.	66
Figura 8 Pocillos antes de colocar solución stop.	66
Figura 9 Reactivos standard del kit.....	66
Figura 10 Pipeteo de antígenos en los pocillos.	66
Figura 11 Incubación de las muestras en la estufa.....	67
Figura 12 Colocación de Hexano en la cámara.	67

RESUMEN

La presente investigación se realizó en la ciudad de Cuenca y tuvo como objetivo encontrar residuos de sulfonamida superior a $100\mu\text{g}/\text{kg}$ en la carne expandida en mercados de esta localidad. Por esta razón, se realizó la determinación de antibióticos, específicamente de sulfonamidas en carne de ave (pollo broiler) ofertados dentro de tres mercados. Para el estudio se recolectó 90 muestras de carne de aproximadamente 10g, mediante un muestreo probabilístico sistemático, para luego ser procesadas en el laboratorio de la Universidad Politécnica Salesiana mediante la técnica de Elisa Cuantitativa con el MaxSignal[®] Sulfonamide ELISA Kit. Para la transformación de datos se utilizó el programa Wolfram Alpha y una estadística descriptiva. Luego del proceso, los resultados encontrados fueron que una muestra (1,11%) de las 90 analizadas, presentaba un valor mayor a $100\mu\text{g}/\text{kg}$ de residuos de Sulfonamida, sin embargo, la mayoría de muestras tenían trazas contaminantes. Lo que da como resultado una contaminación muy baja de Sulfonamidas en la carne de pollo expandida en los principales mercados de la ciudad de Cuenca.

ABSTRACT

The present investigation was carried out in the city of Cuenca and aimed to find sulfonamide residues greater than $100\mu\text{g}/\text{kg}$ in meat sold in markets in this locality. For this reason, the determination of antibiotics was carried out, specifically of sulfonamides in poultry meat (broiler chicken) offered within three markets. For the study, 90 meat samples of approximately 10g were collected, through systematic probabilistic sampling, to be later processed in the laboratory of the Salesian Polytechnic University using the Quantitative Elisa technique with the MaxSignal® Sulfonamide ELISA Kit. For data transformation The Wolfram Alpha program and descriptive statistics were used. After the process, the results found were that one sample (1.11%) of the 90 analyzed, presented a value greater than $100\mu\text{g}/\text{kg}$ of Sulfonamide residues, however, most samples had trace contaminants. Which results in a very low contamination of Sulfonamides in chicken meat sold in the main markets of the city of Cuenca.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el consumo de pollo se ha incrementado en todo el mundo. Esto se debe a varios factores, pero principalmente al hecho de que se trata de una proteína barata de producir y porque la infraestructura e instalaciones que se necesita son de fácil manejo con lo cual se ha masificado esta industria. Según (Perez, 2017) “El consumo de pollo de los ecuatorianos hace 20 años era de 10 kilos por persona, cifra que se ha triplicado”. Al ser una carne consumida con mucha frecuencia por la población, debe ser supervisada por los organismos legalmente establecidos con competencias para el efecto, ya que, al registrarse establecimientos dedicados masivamente a la producción de carne, también existe mayor riesgo de enfermedades que asechan a los animales, es por ello que los avicultores optan por el suministro de antibióticos y diferentes sustancias para el control de las mismas. Convencionalmente los antibióticos son administrados en la industria pecuaria con el propósito de incrementar la producción y reducir costos de alimentos, agua, engorde eficaz y calefacción y/o ventilación según corresponda (Q, Wang W, Regev-Yochay G, Lipsitch M, & Hanage WP, 2015). Esto repercute en el contenido de la carne como producto final, ya que el medicamento al ingresar al organismo y

metabolizarse genera metabolitos secundarios que permanecen dentro del animal y se van eliminando de manera paulatina por diferentes vías.

1.1 Problema

El uso de antibióticos está regulado en todo el mundo, y todos tienen especificaciones técnicas en lo que tiene que ver con el tiempo de retiro, para que cualquier residuo de medicamento sea evacuado del animal, antes de ser faenado. Dado que los consumidores no pueden detectar la presencia de estas sustancias a simple vista, se exponen a generar resistencias en su organismo por las dosis ingeridas inconscientemente al momento de consumir el producto.

Este estudio busca conocer cómo se está manejando el tiempo de retiro de medicamentos, específicamente sulfonamidas en el producto final expuesto al consumidor y que, a futuro, estos resultados sean cada vez más amigables con la salud de los ciudadanos, garantizando inocuidad en los alimentos.

1.2 Delimitación

1.2.1 Temporal

Esta investigación tuvo una duración de 400 horas y fueron distribuidas en la fase de campo, análisis en laboratorio y redacción del documento final.

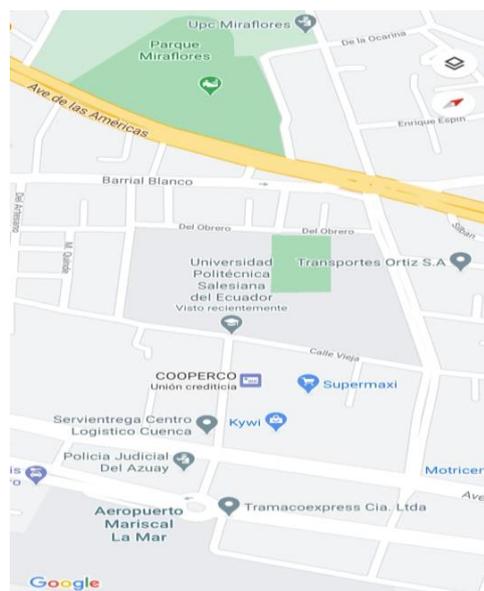
1.2.2 Espacial

La presente investigación se realizó en 90 muestras recolectadas en la capital de Azuay, Santa Ana de los Cuatro Ríos de Cuenca.

1.2.3 Ubicación

Cuenca está ubicada entre la latitud: 2° 53' 57" sur y longitud 79° 00' 55" oeste; a una altitud aproximada de 2.583 metros sobre el nivel del mar. Se encuentra localizada geográficamente en la parte sur del Ecuador, en un valle de la cordillera de los Andes. Está aproximadamente a nueve horas al sur de Quito (capital) y cuatro horas al este de Guayaquil (principal puerto). (Ecuador F., 2020) El desarrollo del trabajo se realizó en la ciudad de Cuenca, en los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana.

Figura 1 Universidad Politecnica Salesiana Cuenca



Fuente: (Earth, 2020)

1.2.4 Académico

La presente investigación está relacionada con el área de inocuidad alimentaria, específicamente en el consumo de alimentos libres de residuos farmacológicos (Sulfonamidas).

1.3 Explicación del problema

La industria alimenticia es la responsable de mantener la salud humana. El alto consumo de alimentos procesados y la industrialización de las materias primas traen consigo consecuencias (enfermedades, exceso de uso de medicamentos, contaminación ambiental, etc.). Por ello, es importante mantener un control sobre el producto final para poder corregir estos errores de proceso, en los que pueden quedar residuos de medicamentos utilizados dentro del ciclo productivo avícola. Según (Sumano & Ocampo, Farmacología Veterinaria, 2007) se debe hacer respetar los tiempos de retiro de medicamentos, disminuir la exposición del consumidor final a estas sustancias que en pequeñas cantidades son las responsables de las resistencias bacterianas a los medicamentos, debido al uso de dosis subterapéuticas.

1.4 Objetivos

1.4.1 General

- Determinar la presencia o ausencia de antibióticos de la familia de Sulfonamidas en carne aviar de los mercados en la ciudad de Cuenca.

1.4.2 Específicos

- Realizar la recolección y toma de muestras para posterior procesamiento.
- Elaborar una tabla para representar los datos obtenidos de las muestras
- Determinar la presencia o ausencia de sulfonamidas en la carne aviar mediante el uso del test de ELISA.

1.5 Hipótesis

1.5.1 Hipótesis Alternativa

Ha: Mediante el análisis de muestras de carne aviar en los mercados de Cuenca, se encuentra la presencia de residuos pertenecientes a la familia de antibióticos Sulfonamidas.

1.5.2 Hipótesis Nula

Ho: Mediante el análisis de muestras de carne aviar en los mercados de Cuenca, no se encuentra la presencia de residuos pertenecientes a la familia de antibióticos Sulfonamidas.

1.6 Fundamentación teórica.

Este trabajo está dirigido a la obtención de datos sobre la presencia de dosis mínimas de antibióticos sulfonamidas permitidas en carne aviar para consumo humano. Este dato es importante ya que nos brinda información sobre la inocuidad del alimento que se expende en los mercados cuencanos y que posteriormente podría dar origen a las resistencias a los antimicrobianos.

La resistencia a los tratamientos con antimicrobianos reduce la eficacia de estos medicamentos y da lugar a un aumento de la morbilidad, de la mortalidad y del gasto sanitario. Como la globalización aumenta la vulnerabilidad de cualquier país a enfermedades originadas en otras latitudes, esa resistencia supone una grave amenaza para la salud pública mundial, y ningún país que actúe en solitario protegerá adecuadamente la salud de su población. (Sanchez, 2006).

Con este trabajo podemos abrir las puertas para que se continúe controlando el uso de antimicrobianos a nivel agropecuario, regulando su dosificación y tiempo de retiro necesario para su eliminación de los tejidos, que posteriormente son utilizados para la alimentación humana y pecuaria.

2. REVISIÓN, ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL.

2.1 Avicultura en el Ecuador

El miembro del directorio de la Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador (CONAVE), Andrés Pérez, afirma que la industria de producción de proteína animal que más ha crecido en estas dos décadas es la avícola en este país. Esto fue expuesto en el marco del XIX Seminario Internacional de Avicultura, el 24 de octubre de 2017, Guayaquil, Ecuador. Se destaca que la distribución de la industria es equitativa, cuya participación es de alrededor de 30% por cada sector, es decir, entre grandes, medianos y pequeños productores. Además, se ha calculado que en Ecuador existen aproximadamente 1.900 granjas avícolas. (Gutiérrez, 2017).

2.2 Pollo Broiler

Con el paso de los años y el crecimiento exponencial de la población, surgen nuevas necesidades para alimentar a la humanidad. Por ello se empiezan a mejorar parámetros

productivos de las aves destinadas a engorde con la finalidad de obtener más carne en un menor lapso de tiempo, así nace el denominado pollo broiler o pollo parrillero. (Gastronómico, 2016).

2.3 Carne de Pollo

La carne de pollo es un alimento adecuado para todas las etapas de la vida. Durante la niñez y adolescencia la carne de pollo aporta los nutrientes necesarios para el crecimiento, desarrollo y funcionamiento del organismo. Suministra grasas esenciales indispensables para formar los componentes de las membranas celulares y la función normal de la piel. De la misma forma, estas grasas ayudan a proteger la salud del corazón, este es un aspecto muy importante de un alimento tanto para los adultos, jóvenes y adultos mayores. (Agroindustria, 2017).

Hay que recalcar que las diferencias de olor, sabor y textura debido a las razas o condiciones de crecimiento son escasas. (Ranken, 2003).

2.4 Población y Mercados en Cuenca

En Cuenca se encuentran referencialmente 6 mercados: El 10 de Agosto, 9 de Octubre, San Francisco, el Arenal, 3 de Noviembre y el de las Flores. Estos son los sitios de venta masiva en donde se desarrollan importantes actividades comerciales dentro de la urbe cuencana. (MiNube, 2007).

Según datos oficiales y vigentes del último Censo de Población y Vivienda, realizado por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) en noviembre 2010, el cantón Cuenca posee una población de 505.585 personas, de las cuales 266.088 son mujeres,

correspondiendo al 52.6%, frente a 239.497 hombres, que equivale al 47.4% siendo la zona urbana en donde se concentra la mayor cantidad de habitantes. (INEC, 2010).

2.5 Sulfonamidas

Según (López & Ocampo Camberos, 2007) manifiestan que: “las sulfonamidas tienen actividad variable contra microorganismos grampositivos y gramnegativos y su efecto depende de la dosis administrada”.

(Sumano & Gutierrez, Farmacología Clínica en aves comerciales, 2010) en su obra *Farmacología clínica en aves comerciales* indican que: “Algunas sulfonamidas se absorben bien por vía digestiva y otras no; las que se absorben VO, lo hacen con rapidez, a nivel de intestino delgado y en alta proporción (70 a 90%)”. Por ello son unas de las primeras elecciones dentro del tratamiento de enfermedades en la avicultura nacional y global.

Según (Rubio & Boggio, 2009) “El principal peligro del uso de sulfamidas es la lesión renal. Las sulfamidas se concentran en orina unas cincuenta veces, por lo que puede pasar el límite de solubilidad y precipitar”.

2.6 Resistencias Antimicrobianas

“La resistencia a los antimicrobianos (farmacorresistencia) se produce cuando los microorganismos, sean bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren cambios que hacen que los medicamentos utilizados para curar las infecciones causadas por ellos dejen de ser

eficaces. Los microorganismos resistentes a la mayoría de los antimicrobianos se conocen como ultrarresistentes” (Serra, 2017).

El problema que podría suponer en el futuro la resistencia a antibióticos fue anticipado por Fleming al recibir el Premio Nobel: “Puede llegar un día en el que cualquiera pueda comprar una penicilina en una tienda. Entonces, existirá el peligro de que una persona se infradosifique por ignorancia y al exponer a sus microbios a dosis no letales de fármacos que los haga resistentes” (Rafael & Martinez, 2016)

2.7 Consumo de Carne aviar en el Ecuador

Se estima que el consumo per cápita es de entre 30 y 32 kilogramos al año. La industria de producción de proteína animal que más ha crecido en estas dos décadas es la avícola. (Telégrafo, 2017).

2.8 Profilaxis de Infecciones

Según (Camacho, 2020) Los estudios clínicos han demostrado que existen situaciones clínicas en las cuales la quimioprofilaxis resulta altamente efectiva y otras en que resulta ineficaz y potencialmente deletérea. De forma general, un antibiótico no tóxico y efectivo es utilizado de forma simple, para prevenir una infección por microorganismos específicos o erradicar la infección inmediatamente después que se ha establecido. Este enfoque resulta frecuentemente satisfactorio. Por otro lado, cuando el objetivo de la quimioprofilaxis es prevenir la colonización o la infección por algunos o todos los microorganismos presentes en el ambiente.

2.9 Análisis de Elisa

ELISA es el acrónimo en inglés para enzoinmunoanálisis de adsorción. Se trata de un examen de laboratorio comúnmente usado para detectar anticuerpos en la sangre. Un anticuerpo es una proteína que el sistema inmunitario del cuerpo produce cuando detecta sustancias dañinas, llamadas antígenos. (Plus, 2020).

Para dar lectura a los kits usados de ELISA se utiliza un lector, que es un instrumento que permite detectar eventos biológicos, químicos o físicos en muestras contenidas en placas de microtitulación. (Wikipedia, 2019)

2.10 Codex Alimentarius

“La finalidad del codex alimentarius es garantizar alimentos inocuos y de calidad a todas las personas y en cualquier lugar. El comercio internacional de alimentos existe desde hace miles de años, pero hasta no hace mucho los alimentos se producían, vendían y consumían principalmente en el ámbito local. Durante el último siglo, el volumen de alimentos comercializados a escala internacional ha crecido exponencialmente y, hoy en día, una cantidad y variedad de alimentos nunca antes imaginada recorre todo el planeta.” (FAO, Codex alimentarius, 2020)

2.11 Límites de uso de Sulfonamidas

Según el Codex, el uso de sulfomidina para una especie no especificada, en musculo es de 100 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) en la reunión número 21 del Codex establecida en el año de 1995. (FAO, Codex Alimentarium, 2020).

2.12 Resumen del estado de arte de resumen del problema

En la investigación realizada por (Iza, 2019) Quito- Ecuador con el título “Detección de residuos Quinolonas y Sulfonamidas en carne de pollo en el Distrito Metropolitano de Quito mediante un kit rápido de diagnóstico” se examinaron un total de 84 muestras de pechuga de pollo, se homogenizó la muestra moliéndola en la misma funda hermética en la que se reservó, luego se la procesó con el Kit Rápido dando como resultado que se encontraron el 16.6 % de las muestras con presencia de los dos antibióticos (enrofloxacina y sulfonamida).

De la misma manera (Pacheco, 2018) en su estudio “Residuos de Antimicrobianos en carne de pollo en el estado de Jalisco” manifiesta que el estudio consistió en analizar 267 muestras de músculo y riñón de pollo obtenidos de puntos de venta habituales de 5 municipios del Estado de Jalisco con estos datos, la familia de antibióticos con mayor frecuencia aparente fue la de sulfonamidas con 42 muestras positivas, siguiendo los β -lactámicos (pH 6) con 34 muestras positivas, y aminoglucósidos (pH 8) con 21 muestras positivas.

En su investigación (Azañero & Chiroque, 2010) expresa que: la metodología empleada para detectar la presencia o ausencia de residuos de antibióticos tuvo como referencia el método microbiológico de difusión de las cuatro placas, para luego cuantificarlos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Los resultados obtenidos por ensayo microbiológico fueron positivos, ya que se obtuvo halos de inhibición en al menos una de las placas ensayadas de cada muestra de 2mm de ancho. Por el método cuantitativo por HPLC se obtuvieron resultados que sobrepasan el Límite Máximo de Residuos (LMR) para sulfametoxazol en 75% de las muestras (mayor a 100ug/Kg de músculo), para norfloxacino en 100% de las muestras (mayor a 100 ug/Kg

de músculo) y para ciprofloxacino en 50% de las muestras (mayor a 100 ug/Kg de músculo).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1 Materiales Físicos

Tabla 1. *Materiales físicos*

Descripción	Unidad	Cantidad
Fundas plástico	Paquete	1
Esfero	Unidad	1
Carpeta	Unidad	1
Pipetas	Unidad	4
Mandil	Unidad	1
Guantes	Caja	2
Balanza	Unidad	1
Pinzas	Unidad	3
Calculadora	Unidad	1
Cuaderno	Unidad	1

Mascarilla	Caja	1
------------	------	---

3.1.2 Materiales Químicos

Tabla 2 Materiales químicos

Descripción	Unidad	Cantidad
Agua Milli-Q	Galón	1
Kit de Elisa	Paquete	1
Conjugado Sulfonamida	Frasco	1
Alcohol	Galón	1
Acetato de etilo	ml	480
Hexano	ml	63

3.2 Población y Muestra

Se tomó como población los mercados de la ciudad de Cuenca, en donde se puede observar que los controles por parte de las autoridades no son frecuentes, pese a que se trata de un producto que se comercializa de forma permanente ya que es de consumo diario de la ciudadanía. Este factor, es decir la falta de vigilancia constante, aumenta la probabilidad de que se venda el producto con presencia de antibióticos.

3.2.1 Selección de la Muestra

Para el análisis se emplearon 90 muestras de carne de pollo, obtenidas al azar en tres mercados de la ciudad de Cuenca, las mismas que, para conservar sus características, se

mantuvieron en congelación hasta horas previas al proceso que se realizó en el laboratorio.

3.2.2 Obtención de la Muestra

Para obtener la muestra, se procedió a visitar los mercados a las siete am para encontrar producto fresco y en mayor cantidad. Así, se solicita a la vendedora una muestra de 10g, la misma que colocamos en fundas de plástico individuales.

3.3 Procesamiento de muestras

Para el proceso se utilizó como guía el manual de uso proporcionado en el Kit Max Signal Sulfonamide Kit (PerkinElmer, 2021), siendo estos los pasos realizados:

Protocolo de preparación de muestras del kit de ELISA para sulfonamida:

Preparación De Los Reactivos

1. Tampón de extracción A de sulfonamida 1X

Se combinó 1 volumen de 10X Sulfonamide Sulfonamide Extraction Buffer A con 9 volúmenes de agua destilada/desionizada.

2. Preparación de tampón de extracción de tejido 1X

A 100 ml de agua destilada/desionizada (Milli-Q) en una botella de 200 ml, se agregó todo el contenido del concentrado de tampón de extracción de tejido.

Mezclamos o agitamos vigorosamente la botella durante 2 minutos.

Se dejó que la solución se equilibre a temperatura ambiente durante 10 minutos.

Mezclamos la solución durante 1 minuto adicional o hasta que el polvo se haya disuelto.

Es normal que haya una pequeña cantidad de partículas en la solución final. Esta solución se puede almacenar a temperatura ambiente durante la vida útil del kit.

Pollo, Pescado, Camarones

1. Retiramos la grasa de la muestra. Homogeneizamos la muestra con un homogeneizador de tejidos apropiado para que tenga la consistencia de una pasta o puré. Se llevó la muestra a temperatura ambiente.
2. A 2,0 g de muestra homogeneizada en un tubo cónico de plástico de 15 ml, agregamos 5,0 ml de acetato de etilo.
3. Llevamos al vórtex la muestra manualmente durante 3 minutos a máxima velocidad o durante 10 minutos con un vórtex multitubo.
4. Centrifugamos durante 5 minutos a 4000 xga temperatura ambiente (20–25 °C).
5. Transferimos 3,0 ml del sobrenadante de acetato de etilo a un tubo cónico de plástico nuevo de 15 ml.
6. Secamos el sobrenadante con una estufa a 60 °C durante unas 8 horas hasta que se seque.
7. Al residuo seco, agregamos 0,6 ml de tampón de extracción A de sulfonamida 1X y 0,6 ml de hexano.

8. Llevamos al vórtex la muestra manualmente durante 1 minuto a máxima velocidad.

9. Se dejó la muestra a temperatura ambiente (20–25 °C) durante 5 minutos.

10. Centrifugamos la muestra a 4000 xg durante 5 min a temperatura ambiente (20–25 °C)

11. Se retiró completamente la capa superior de hexano aspirando o pipeteando con cuidado.

12. Se usó 50 µL de la capa acuosa inferior por pocillo en el ensayo.

Nota: factor de dilución = 0,5

Preparación de reactivos

Importante: Todos los reactivos y las muestras deben alcanzar la temperatura ambiente al menos 2 horas antes de su uso. Asegúrese de leer la sección "Advertencias y precauciones". Los reactivos y las muestras deben prepararse antes de ejecutar ELISA. Todos los reactivos y muestras deben mezclarse invirtiendo o agitando en vórtex antes de su uso. Prepare los volúmenes que se necesitan para la cantidad de pozos que se están ejecutando.

No devuelva ningún reactivo a las botellas originales. La distribución en alícuotas de los reactivos para uso individual y el uso de reservorios desechables puede minimizar el riesgo de contaminación y se recomienda.

1. preparación de solución de lavado 1X

Combinamos 1 volumen de la solución de lavado 20X con 19 volúmenes de agua destilada/desionizada y se mezcló bien.

2. preparación de 1X HRP-anticuerpo conjugado #2

Combinamos 1 volumen de 100X HRP-Conjugated Antibody #2 con 99 volúmenes de Sulfonamide Antibody #2 Diluent. Llevamos al vórtex durante 10 segundos para mezclar. Se preparó esta solución inmediatamente antes de realizar su paso de adición en el ELISA

Protocolo de prueba ELISA

1 Agregamos 50 μL de cada estándar por duplicado a diferentes pocillos usando una nueva punta de pipeta para cada adición estándar. Agregamos los estándares de baja a alta concentración.

2 Se agregó 50 μL de cada muestra por duplicado a los pozos restantes usando puntas de pipeta nuevas para cada adición de muestra.

3 Agregamos 100 μL de Sulfonamida Anticuerpo #1 a cada pocillo.

4 Se mezcló la solución en los pocillos durante 1 minuto utilizando un agitador de placas o golpeando suavemente la placa para que no se derrame ningún líquido.

5 Cubrimos el plato. Incubamos la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente controlada (20–25 °C).

6 Después de la incubación, se lavó la placa 3 veces.

Para lavar el plato:

a. Decantar bien el líquido de cada pocillo.

b. Agregamos 250 μL de solución de lavado 1X a cada pocillo.

c. Se incubó la solución de lavado durante 15 segundos en cada pocillo.

d. Decantar bien la solución de lavado de cada pocillo. Repetimos los pasos

b.–d. dos veces más.

7 Después del tercer lavado, invertimos la placa y la golpeamos con fuerza contra toallas de papel hasta que no quedó solución de lavado 1X. Continuamos con el siguiente paso inmediatamente para evitar que la placa se seque.

8 Agregamos 150 μ l de anticuerpo n.º 2 conjugado con HRP 1X recién preparado a cada pocillo.

9 Mezclamos la solución en los pocillos durante 1 minuto utilizando un agitador de placas o golpeando suavemente la placa para que no se derrame ningún líquido.

10 Cubrimos el plato. Se incubó la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente controlada (20–25 °C).

11 Después de la incubación, se lavó la placa 3 veces.

Para lavar el plato:

A. Decantamos bien el líquido de cada pocillo.

B. Agregamos 250 μ L de solución de lavado 1X a cada pocillo.

C. Incubamos la solución de lavado durante 15 segundos en cada pocillo.

D. Decantamos bien la solución de lavado de cada pocillo. Repetimos los pasos b.–d. dos veces más.

12 Después del tercer lavado, e invirtió la placa y la golpeamos con fuerza contra toallas de papel hasta que no quedó solución de lavado 1X. Continuamos con el siguiente paso inmediatamente para evitar que la placa se seque.

13 Agregamos 100 μ L de sustrato TMB a cada pocillo. Se evitó la contaminación al no tocar el interior de los pocillos con la punta de la pipeta. Deseche el sustrato si se observa alguna coloración antes de agregarlo a cada pocillo.

14 Se mezcló la solución en los pocillos durante 1 minuto golpeando suavemente la placa para que no se derrame ningún líquido.

15 Cubrimos el plato. Se incubó la placa durante 15 minutos a temperatura ambiente controlada (20–25 °C) en la oscuridad.

16 Después de la incubación, se agregó 100 μL de solución de parada a cada pocillo para detener la reacción del sustrato. Evite la contaminación al no tocar el interior de los pocillos con la punta de la pipeta.

17 Se usó una toallita sin pelusa para limpiar el fondo de los pozos antes de continuar con el siguiente paso.

18 Obtuvimos los valores de absorbancia utilizando un lector de placas ajustado a un filtro primario de 450 nm (OD450). Para disminuir el fondo con algunas lecturas, se recomienda usar un filtro diferencial adicional de 630nm simultáneamente con cada lectura.

3.4 Operacionalización de Variables

3.4.1 Variables Dependientes

Tabla 3 Variables Dependientes

Concepto	Categorías	Indicadores	Variables
Muestras de Pechuga Aviar en los mercados de Cuenca	<ul style="list-style-type: none"> Inocuidad de los alimentos 	<ul style="list-style-type: none"> Número de muestras a tomar Peso de muestra a tomar 	<ul style="list-style-type: none"> 90 2g

3.4.2 Variables Independientes

Tabla 4 Variables independientes

Concepto	Categoría	Indicadores	Variables
Sulfonamidas para detectar la presencia del antibiótico en la carne aviar de consumo humano.	Química	Presencia de Sulfonamidas	ppm

3.5 Consideraciones éticas

En el artículo 5, capítulo II del Reglamento de Registro y Control Sanitario de Alimentos procesados publicado en el Registro Oficial (Ecuador T. C., 2014) se manifiesta que: “Es responsabilidad del titular del Registro Sanitario de alimentos procesados nacionales y extranjeros, cumplir con las especificaciones fisicoquímicas, bromatológicas y microbiológicas establecidas en las disposiciones de las normas técnicas ecuatorianas INEN y en caso de no existir la norma técnica nacional deberá cumplir con la norma técnica internacional como: Codex Alimentarius, Código de Regulaciones de la Administración de drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA), la Unión Europea u otros códigos internacionales”

Según (FAO, Codex alimentarius, 2020), en la reunión número 21 del Codex establecida en el año 1995 manifiesta que: “El uso de sulfomidina para una especie no especificada, en musculo es de 100 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)”. Por lo tanto los valores obtenidos en el estudio deben estar por debajo del mismo, de esta forma confirmamos o negamos la buenas prácticas de los productores y procesadores de carne aviar.

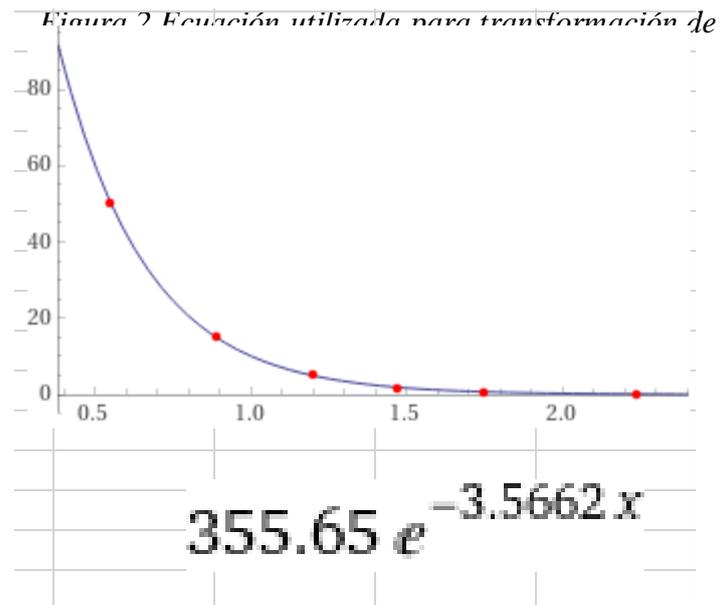
En la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1338:2012 carne y productos cárnicos, productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados - madurados y productos cárnicos pre cocidos - cocidos. Según (Normalización, 2012) establece en su punto 6.1.6 que: “El producto no debe contener residuos de plaguicidas CAC/LMR 1, contaminantes Codex Stan 193 y residuos de medicamentos veterinarios CAC/LMR 2, en cantidades superiores a los límites máximos establecidos por el Codex Alimentarius.” De esta manera, luego de revisar la normativa ecuatoriana podemos establecer el valor referencial colocado en la normativa del Codex alimentarius.

3.6 Metodología

Esta investigación se realizó mediante el análisis estadístico descriptivo que se basa en la clasificación y disposición de los datos mediante los valores y gráficos obtenidos al tabular los valores que arrojó el estudio.

3.7 Ecuación para la transformación de datos

Luego de obtener los valores de absorbancia del equipo de Elisa, se utilizó una fórmula para obtener el dato de absorbancia relativa, con este dato y siguiendo los puntos obtenidos en la gráfica de las pruebas estándar, se encontró la siguiente ecuación que permitirá finalmente obtener el valor de cada muestra en la medida ppm :



4. RESULTADO Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados de la Investigación

Los resultados totales de la presente investigación se detallan en la tabla 1.

Tabla 5 Resultados de la Investigación de Sulfonamidas en carne

N° de Muestras	Mercado	Positivas	Negativas
30	Feria Libre	0	30
30	12 de Abril	0	30
30	10 de Agosto	1	29

Al terminar con el procesamiento de las muestras se obtuvo los valores de absorbancia del equipo de ELISA. Para obtener los resultados finales, se procedió a encontrar la ecuación mediante la ubicación en la tabla de las pruebas estándar y el uso del programa Wolfram/Alpha. Al aplicar la ecuación a los valores de absorbancia relativa obtenidos se llegó a los resultados finales. Posteriormente, se procedió a clasificar los datos que se muestran a continuación:

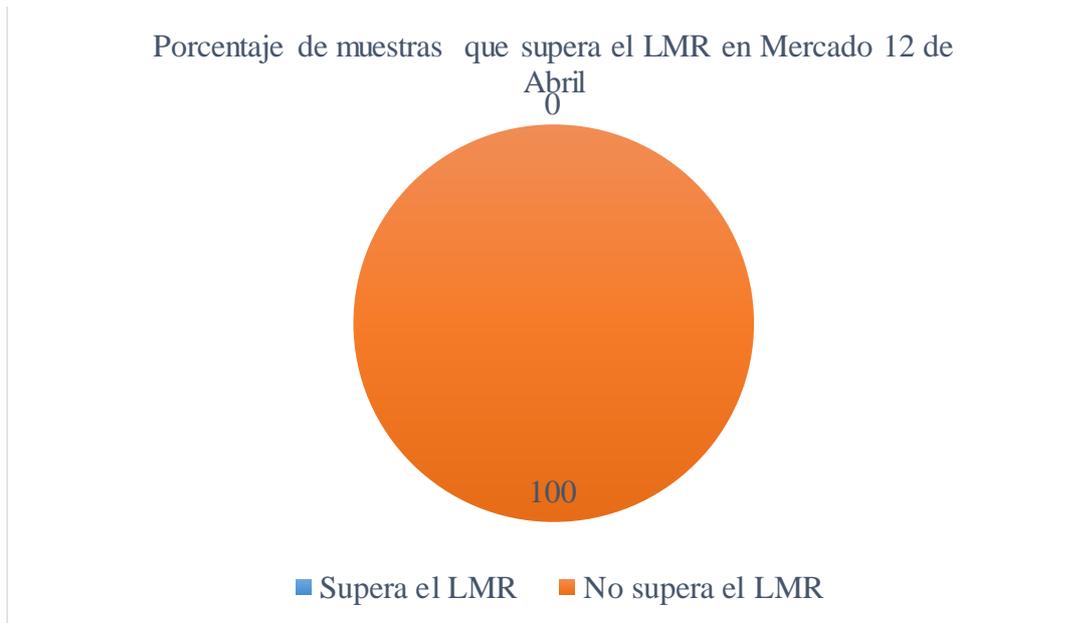
El porcentaje de muestras que sobrepasan el límite máximo requerido (LMR) en la Feria Libre se detalla en la figura 3, siendo igual a 0 por ciento al haber ausencia de las mismas

Figura 3 Porcentaje de muestras que superan el LMR en feria libre



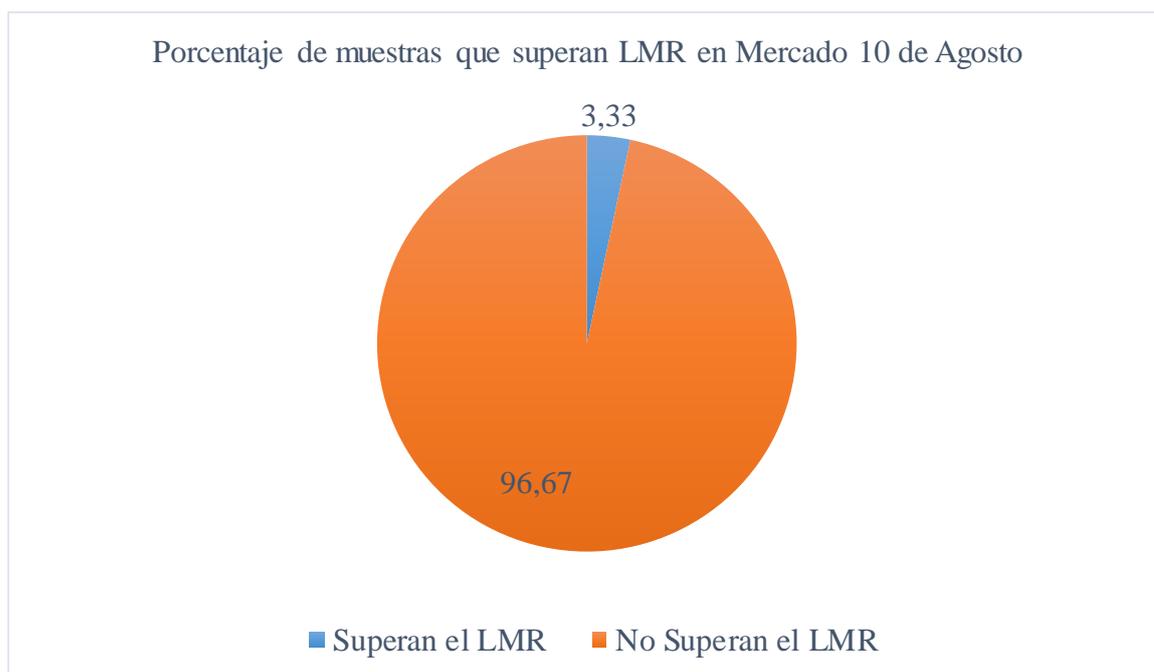
En la figura 4 se puede visualizar el porcentaje de muestras que superan el LMR en el mercado 12 de Abril de la ciudad de Cuenca, siendo las mismas igual a cero.

Figura 4 Porcentaje de muestras que superan el LMR en Mercado 12 de Abril



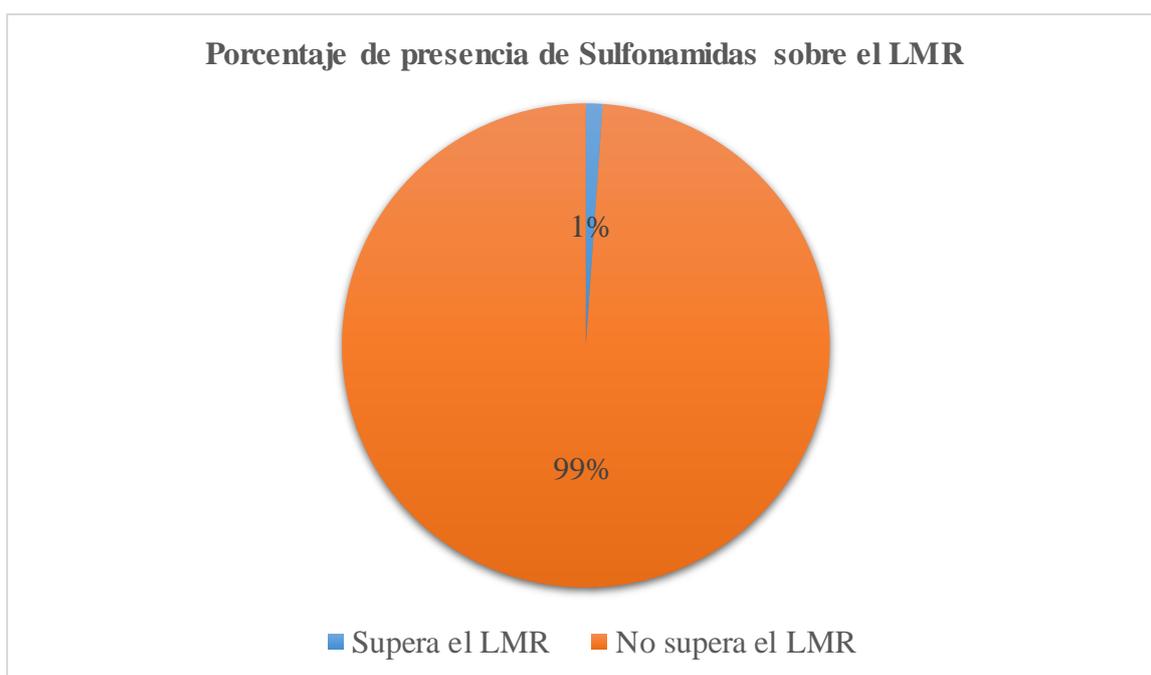
En la figura 5 se observa el porcentaje de muestras que superan el LMR en el mercado 10 de Agosto, el cual se ubica en 3,33 por ciento y con el 96,67 por ciento de las muestras que no lo superan. Según la secuencia de muestreo, al ser consecutivo, se llegó a la conclusión que la carne contaminada era comercializada en el mismo punto de venta.

Figura 5 Porcentaje de muestras que superan el LMR en mercado 10 de Agosto



En la figura 6 podemos observar el resultado global del estudio, que nos indica la presencia de 1/90 muestras contaminadas con niveles superiores a los permitidos por el Codex Alimentarius para el expendio de tejido muscular de pollo para consumo humano. Esta muestra se encontró en el mercado 10 de Agosto. Probablemente el pollo pasó por un proceso infeccioso, el antibiótico fue administrado, pero no se respetó el tiempo de retiro para el sacrificio del animal.

Figura 6 Porcentaje de presencia de sulfonamidas sobre el LMR en todo el estudio



Como podemos observar en la tabla 5 y figura 6, se recolectaron 90 muestras totales para ser procesadas, estas fueron recolectadas en los mercados de la ciudad de Cuenca

del 28 de diciembre del 2021 al 30 de enero del 2022. Finalmente se constató que una fue positiva para el kit de sulfonamida.

4.2 Estadística

Número de muestras	Media	Mediana	Moda	Varianza	Desviación típica	Coficiente de variación
90	6,02	0,57	0,28	1828,02	42,76	7,10

En el cuadro se visualiza una media de 6,02 que representa el valor promedio obtenido en el estudio.

La mediana que se obtiene colocando los datos en orden de mayor a menor y se encuentra en la posición central (par) es 0,57

El valor que más veces se repite es 0,28 (moda)

El coeficiente de variación de 7,10% indica que existe confiabilidad en los datos de campo.

5. DISCUSIONES

En el presente trabajo denominado: “Detección de antibióticos, sulfonamidas en carne aviar mediante prueba de ELISA cuantitativa” se obtuvo un porcentaje de positividad a la prueba de antibiótico sobre el límite permitido por el Codex Alimentarius del 1,115 por ciento, esto equivale a una muestra que sobrepasa el LMR y por lo tanto pueden generar infra dosificaciones en las personas que consuman la carne.

De acuerdo a los datos encontrados, podemos corroborar con lo que afirma (Barrios, 2012) en un estudio realizado en la ciudad de Tacna- Perú con 20 muestras de carne e hígado de pollo, el mismo que indica: “ Que de las 20 muestras de músculo de pollos: siete corresponden a pollos sin contaminación por residuos de sulfamidas y representando un 35 % de las muestras; 13 muestras presentan un bajo grado de contaminación por residuos de sulfamidas, representando el 65%; y no habiendo ninguna muestra con grado de contaminación alta. Podemos concluir que el 100 % de las muestras de músculos de pollos beneficiados en la ciudad de Tacna, no están contaminados o presentan un nivel bajo de contaminación por residuos de sulfamidas y por lo tanto no representan riesgo para la salud pública.”; sin embargo, en nuestro estudio, obtuvimos una sola muestra de las 90 analizadas correspondiendo al 1.11% que sobrepasan el LMR.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

En la ciudad de Cuenca con un total de 90 muestras procesadas, existe una muestra que sobrepasa el límite permitido por el Codex Alimentarius y resulta perjudicial para el consumidor ya que genera resistencia bacteriana a los antibióticos.

Se concluye que el 1,11% de la totalidad de muestras fue positivo para el test realizado y se encontró en el mercado 10 de Agosto.

Los resultados nos indican que en la mayoría de muestras existe presencia del antibiótico, en dosis pequeñas que no superan el límite referencial. Esta presencia se atribuye a tratamientos correctivos dentro de los galpones o profilácticos por medio de alimentos balanceados que contienen dosis bajas de medicamentos.

6.2 Recomendaciones

Este trabajo investigativo aporta mucho a la salud humana y animal, ya que al producir animales que alimenten a personas, también estamos involucrados en la salud de la sociedad. Por ello es importante mantener estudios frecuentes de este tipo, con el fin de conocer el origen de los problemas que a largo plazo pueden generar afectaciones a la salud humana. Además, buscar nuevos modelos de producción que tenga como resultado final un producto final más limpio, más natural e inocuo para el consumo. De la misma manera será importante que los miembros de la comunidad científica sigan esta línea de estudio, ya que existe mucha información por recabar y que será de mucha utilidad a futuro.

El uso adecuado y técnico de antibióticos debe enfocarse en las etapas correctiva, tendiendo siempre a disminuir o eliminar de los tratamientos profilácticos, debido a su presencia en bajas dosis en la carne. Por ello, esperamos que los profesionales de la salud animal puedan innovar en temas como formulación de balanceados, manejo alternativo de animales, sanidad animal y comercialización responsable de los productos avícolas.

8. Bibliografía

- Ministerio de Agroindustria(2017). Usos y preparaciones culinarias para el aprovechamiento de la proteína animal. *Manual de Carnes y Huevo*. Obtenido de <http://www.ciap.org.ar/Sitio/Archivos/ManualdeCarnesyHuevo2017.pdf>
- Azañero, G., & Chiroque, M. (2010). Detección y cuantificación de residuos antimicrobianos en tejido muscular de pollo en cuatro mercados de Lima Cercado.*Universidad Nacional Mayor de San Marcos* . Obtenido de <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/1633>
- Barrios, L. A. (02 de 2012). Estudio de los niveles de residuos de antibióticos en músculo e hígado de pollos beneficiados en la ciudad de tacna, 2011 .*UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GRDHMANN -TACHA* . Obtenido de <http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/675/TM0121.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Camacho, V. (5 de Abril de 2020). *Antimicrobianos en la práctica médica*. Obtenido de: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/urgencia/antibioticos.pdf>
- Carrillo, L. G., Espitia, C., & Berthel, L. (2012). PRESENCIA DE LINCOMICINA COMO PROMOTOR DE CRECIMIENTO EN CARNE DE POLLO. *Vitae*, 328-330.
- Clima-Data.org. (24 de Abril de 2020). *Climate-Data.org*. Obtenido de <https://es.climate-data.org/america-del-sur/ecuador/provincia-del-azuay/cuenca-875185/>

Earth, G. (10 de Noviembre de 2020). Localización de la Universidad Politécnica Salesiana. *Google earth*. Obtenido de <https://www.google.com/intl/es-419/earth/>

Ecuador, F. (10 de Noviembre de 2020). Ubicación Geográfica de Cuenca (Ecuador); ¿Cuáles es su ubicación? Foros Ecuador. Obtenido de: <http://www.forosecuador.ec/forum/ecuador/educaci%C3%B3n-y-ciencia/124159-ubicaci%C3%B3n-geogr%C3%A1fica-de-cuenca-ecuador-%C2%BFcu%C3%A1l-es-su-ubicaci%C3%B3n>

Ecuador, T. (3 de Junio de 2014). Registro Oficial. ARCSA. Obtenido de <https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2016/06/Acuerdo-Ministerial-4871.pdf>

FAO. (2 de Abril de 2013). *Revisión del desarrollo Avícola*. Obtenido de [fao.org: http://www.fao.org/3/a-i3531s.pdf](http://www.fao.org/3/a-i3531s.pdf)

FAO. (07 de Mayo de 2020). *Codex Alimentarium*. Obtenido de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXM%2B2%252FMRL2s.pdf>

FAO. (07 de Mayo de 2020). *Codex alimentarius*. Obtenido de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/es/>

FAO. (2 de Abril de 2020). *CODEX ALIMENTARIUS*. Obtenido de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/themes/antimicrobial-resistance/es/#c437070>

Gutierrez, M. (30 de Octubre de 2017). *Ecuador: Avicultura provee la mayor fuente de proteína animal*. Avinews. Obtenido de <https://avicultura.info/ecuador-avicultura-provee-la-mayor-fuente-de-proteina-animal/>

Iza, D. (2019). *Detección de residuos de quinolonas y sulfonamidas en carne de pollo en el distrito metropolitano de Quito mediante un kit rápido de diagnóstico*. Udl. Obtenido de <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/10935/1/UDLA-EC-TMVZ-2019-03.pdf>

INEC (Noviembre de 2010). *Censo de Población y Vivienda*. Cuenca, Azuay, Ecuador.

López, H. S., & Ocampo Camberos, L. (2007). *Farmacología Veterinaria*. México: McGraw-Hill.

MiNube. (2007). *Mercados en Cuenca*. Obtenido de <https://www.minube.com/tag/mercados-cuenca-c230476>

Nelson. (1956). *System of Ethics*. New York: Yale Univ.

Normalización, I. E. (2012). Norma técnica ecuatoriana nte inen 1338:2012 Tercera revisión INEN. Obtenido de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1338-3.pdf

Pacheco, C. (2018). *Unidad de Investigacion de Inocuidad de los alimentos*. Obtenido de <http://www.e-gnosis.udg.mx/index.php/trabajosinocuidad/article/view/509>

Perez, A. (30 de Octubre de 2017). *Ecuador: Avicultura provee la mayor fuente de proteína animal*. Obtenido de Avinews: <https://avicultura.info/ecuador-avicultura-provee-la-mayor-fuente-de-proteina-animal/>

PerkinElmer. (2021). MaxSignal Sulfonamide ELISA Kit. *Catalog #FOOD-1056-02*.

- Plus, M. (9 de Abril de 2020). *Biblioteca Nacional de Medicina de los EEUU*. Recuperado el 07 de Mayo de 2020, de <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003332.html>
- Q, C., Wang W, Regev-Yochay G, Lipsitch M, & Hanage WP. (2015). Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be? 240-7.
- Rafael, R., & Martinez, M. (2016). *Fármacos antimicrobianos mecanismos de acción y resistencia*. España: DEXTRA.
- Ranken, M. (2003). *Manual de la industria de la Carne*. Madrid: AMV EDICIONES.
- Rubio, M., & Boggio, J. C. (2009). *Farmacología Veterinaria*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Sanchez, R.(2006). Alteraciones del nicho ecológico: resistencias bacterianas. *Gaceta Sanitaria*, 175-181.
- Serra, M. A. (2017). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Medicas*, 3.
- Sumano, H., & Gutierrez, L. (2010). *Farmacología Clínica en aves comerciales*. Mexico: Mc Graw Hill.
- Sumano, H., & Ocampo, L. (2007). *Farmacología Veterinaria*. México: Mc Graw Hill Interamericana.
- Telégrafo, E. (27 de Octubre de 2017). *El Telégrafo*. Recuperado el 07 de Mayo de 2020, de <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/4/ecuatorianos-consumen-32-kg-de-pollo-al-ano>

Wikipedia. (23 de Septiembre de 2019). *Lector de placas*. Obtenido de https://es.wikipedia.org/wiki/Lector_de_placas

7. ANEXOS

Tabla 6 Resultados de Análisis de Muestras

Muestra N°	Mercado	Método	Valor obtenido ($\mu\text{g/Kg}$)	LMR ($\mu\text{g/Kg}$)
1	Feria Libre	ELISA	0,145	100
2	Feria Libre	ELISA	0,074	100
3	Feria Libre	ELISA	3,015	100
4	Feria Libre	ELISA	5,039	100
5	Feria Libre	ELISA	0,420	100
6	Feria Libre	ELISA	0,593	100
7	Feria Libre	ELISA	1,958	100
8	Feria Libre	ELISA	1,309	100
9	Feria Libre	ELISA	0,311	100
10	Feria Libre	ELISA	0,283	100
11	Feria Libre	ELISA	2,614	100
12	Feria Libre	ELISA	0,218	100
13	Feria Libre	ELISA	0,887	100
14	Feria Libre	ELISA	2,111	100
15	Feria Libre	ELISA	2,808	100
16	Feria Libre	ELISA	0,257	100
17	Feria Libre	ELISA	0,335	100
18	Feria Libre	ELISA	0,277	100

19	Feria Libre	ELISA	2,920	100
20	Feria Libre	ELISA	0,628	100
21	Feria Libre	ELISA	1,206	100
22	Feria Libre	ELISA	0,750	100
23	Feria Libre	ELISA	1,698	100
24	Feria Libre	ELISA	0,283	100
25	Feria Libre	ELISA	0,665	100
26	Feria Libre	ELISA	0,055	100
27	Feria Libre	ELISA	5,203	100
28	Feria Libre	ELISA	2,478	100
29	Feria Libre	ELISA	0,541	100
30	Feria Libre	ELISA	0,823	100
31	12 de Abril	ELISA	3,829	100
32	12 de Abril	ELISA	1,499	100
33	12 de Abril	ELISA	0,077	100
34	12 de Abril	ELISA	0,340	100
35	12 de Abril	ELISA	0,424	100
36	12 de Abril	ELISA	0,357	100
37	12 de Abril	ELISA	0,152	100
38	12 de Abril	ELISA	0,355	100
39	12 de Abril	ELISA	0,655	100
40	12 de Abril	ELISA	0,820	100
41	12 de Abril	ELISA	0,933	100
42	12 de Abril	ELISA	0,602	100

43	12 de Abril	ELISA	0,080	100
44	12 de Abril	ELISA	0,496	100
45	12 de Abril	ELISA	0,295	100
46	12 de Abril	ELISA	0,264	100
47	12 de Abril	ELISA	0,838	100
48	12 de Abril	ELISA	1,123	100
49	12 de Abril	ELISA	0,674	100
50	12 de Abril	ELISA	0,472	100
51	12 de Abril	ELISA	0,281	100
52	12 de Abril	ELISA	0,491	100
53	12 de Abril	ELISA	0,767	100
54	12 de Abril	ELISA	1,723	100
55	12 de Abril	ELISA	0,181	100
56	12 de Abril	ELISA	0,174	100
57	12 de Abril	ELISA	0,322	100
58	12 de Abril	ELISA	1,386	100
59	12 de Abril	ELISA	0,558	100
60	12 de Abril	ELISA	0,270	100
61	10 de Agosto	ELISA	0,096	100
61	10 de Agosto	ELISA	0,065	100
63	10 de Agosto	ELISA	0,078	100
64	10 de Agosto	ELISA	0,699	100
65	10 de Agosto	ELISA	0,414	100
66	10 de Agosto	ELISA	0,052	100

67	10 de Agosto	ELISA	0,106	100
68	10 de Agosto	ELISA	0,142	100
69	10 de Agosto	ELISA	0,070	100
70	10 de Agosto	ELISA	0,194	100
71	10 de Agosto	ELISA	0,068	100
72	10 de Agosto	ELISA	17,001	100
73	10 de Agosto	ELISA	0,576	100
74	10 de Agosto	ELISA	0,815	100
75	10 de Agosto	ELISA	1,119	100
76	10 de Agosto	ELISA	1,760	100
77	10 de Agosto	ELISA	0,284	100
78	10 de Agosto	ELISA	0,116	100
79	10 de Agosto	ELISA	0,735	100
80	10 de Agosto	ELISA	1,627	100
81	10 de Agosto	ELISA	0,560	100
82	10 de Agosto	ELISA	0,415	100
83	10 de Agosto	ELISA	0,623	100
84	10 de Agosto	ELISA	0,152	100
85	10 de Agosto	ELISA	2,417	100
86	10 de Agosto	ELISA	1,791	100
87	10 de Agosto	ELISA	4,354	100
88	10 de Agosto	ELISA	39,305	100
89	10 de Agosto	ELISA	0,797	100
90	10 de Agosto	ELISA	404,898	100

91	Control Negativo	ELISA	ND	100
92	Estándar 1	ELISA	ND	100
93	Estándar 2	ELISA	ND	100
94	Estándar 3	ELISA	ND	100
95	Estándar 4	ELISA	ND	100
96	Estándar 5	ELISA	ND	100

Tabla 7 Datos Obtenidos de las muestras en el Mercado Feria Libre

Mercado Feria Libre			
Número de Muestra	Método	Resultado $\mu\text{g}/\text{kg}$	LMR ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)
1	ELISA	0,145	100
2	ELISA	0,074	100
3	ELISA	3,015	100
4	ELISA	5,039	100
5	ELISA	0,420	100
6	ELISA	0,593	100
7	ELISA	1,958	100
8	ELISA	1,309	100
9	ELISA	0,311	100
10	ELISA	0,283	100
11	ELISA	2,614	100
12	ELISA	0,218	100

13	ELISA	0,887	100
14	ELISA	2,111	100
15	ELISA	2,808	100
16	ELISA	0,257	100
17	ELISA	0,335	100
18	ELISA	0,277	100
19	ELISA	2,920	100
20	ELISA	0,628	100
21	ELISA	1,206	100
22	ELISA	0,750	100
23	ELISA	1,698	100
24	ELISA	0,283	100
25	ELISA	0,665	100
26	ELISA	0,055	100
27	ELISA	5,203	100
28	ELISA	2,478	100
29	ELISA	0,541	100
30	ELISA	0,823	100

Tabla 8 Datos Obtenidos en el mercado 12 de Abril

Mercado 12 de Abril			
Número de Muestra	Método	Resultado $\mu\text{g}/\text{kg}$	LMR ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)
31	ELISA	3,829	100

32	ELISA	1,499	100
33	ELISA	0,077	100
34	ELISA	0,340	100
35	ELISA	0,424	100
36	ELISA	0,357	100
37	ELISA	0,152	100
38	ELISA	0,355	100
39	ELISA	0,655	100
40	ELISA	0,820	100
41	ELISA	0,933	100
42	ELISA	0,602	100
43	ELISA	0,080	100
44	ELISA	0,496	100
45	ELISA	0,295	100
46	ELISA	0,264	100
47	ELISA	0,838	100
48	ELISA	1,123	100
49	ELISA	0,674	100
50	ELISA	0,472	100
51	ELISA	0,281	100
52	ELISA	0,491	100
53	ELISA	0,767	100
54	ELISA	1,723	100
55	ELISA	0,181	100

56	ELISA	0,174	100
57	ELISA	0,322	100
68	ELISA	1,386	100
59	ELISA	0,558	100
60	ELISA	0,270	100

Tabla 9 Datos obtenidos del mercado 10 de Agosto

Mercado 10 de Agosto			
Número de Muestra	Método	Resultado $\mu\text{g}/\text{kg}$	Límite $\mu\text{g}/\text{kg}$
61	ELISA	0,096	100
62	ELISA	0,065	100
63	ELISA	0,078	100
64	ELISA	0,699	100
65	ELISA	0,414	100
66	ELISA	0,052	100
67	ELISA	0,106	100
68	ELISA	0,142	100
69	ELISA	0,070	100

70	ELISA	0,194	100
71	ELISA	0,068	100
72	ELISA	17,001	100
73	ELISA	0,576	100
74	ELISA	0,815	100
75	ELISA	1,119	100
76	ELISA	1,760	100
77	ELISA	0,284	100
78	ELISA	0,116	100
79	ELISA	0,735	100
80	ELISA	1,627	100
81	ELISA	0,560	100
82	ELISA	0,415	100
83	ELISA	0,623	100
84	ELISA	0,152	100
85	ELISA	2,417	100
86	ELISA	1,791	100
87	ELISA	4,354	100
88	ELISA	39,305	100
89	ELISA	0,797	100
90	ELISA	404,898	100



Ficha de Campo

Autor: Giancarlo Alvarado

Mercado	Numero de Muestra	Fecha toma de muestra	Peso	Resultado análisis
xxxxxx	xxxxxx	xxxxxxxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxxxxxx

Observaciones:

Tabla 10 Valores de Absorbancia

Valores primarios		
Muestra	Abs	Abs Relativa
1	2,383	106,38
2	2,573	114,87
3	1,532	68,39
4	1,388	61,96
5	2,085	93,08
6	1,988	88,75
7	1,653	73,79
8	1,766	78,84
9	2,169	96,83
10	2,195	97,99
11	1,572	70,18
12	2,268	101,25
13	1,875	83,71
14	1,632	72,86

15	1,552	69,29
16	2,223	99,24
17	2,148	95,89
18	2,201	98,26
19	1,541	68,79
20	1,972	88,04
21	1,789	79,87
22	1,922	85,80
23	1,693	75,58
24	2,195	97,99
25	1,956	87,32
26	2,654	118,48
27	1,379	61,56
28	1,587	70,85
29	2,014	89,91
30	1,896	84,64
31	1,465	65,40
32	1,728	77,14
33	2,562	114,38
34	2,144	95,71
35	2,082	92,95
36	2,13	95,09
37	2,37	105,80
38	2,132	95,18

39	1,96	87,50
40	1,897	84,69
41	1,861	83,08
42	1,984	88,57
43	2,55	113,84
44	2,038	90,98
45	2,184	97,50
46	2,215	98,88
47	1,891	84,42
48	1,809	80,76
49	1,952	87,14
50	2,052	91,61
51	2,197	98,08
52	2,041	91,12
53	1,916	85,54
54	1,689	75,40
55	2,321	103,62
56	2,332	104,11
57	2,159	96,38
58	1,75	78,13
59	2,005	89,51
60	2,209	98,62
61	2,498	111,52
62	2,609	116,47

63	2,557	114,15
64	1,942	86,70
65	2,089	93,26
66	2,672	119,29
67	2,471	110,31
68	2,388	106,61
69	2,587	115,49
70	2,302	102,77
71	2,595	115,85
72	1,047	46,74
73	1,996	89,11
74	1,899	84,78
75	1,81	80,80
76	1,683	75,13
77	2,194	97,95
78	2,446	109,20
79	1,928	86,07
80	1,705	76,12
81	2,004	89,46
82	2,088	93,21
83	1,974	88,13
84	2,37	105,80
85	1,594	71,16
86	1,678	74,91

87	1,429	63,79
88	0,812	36,25
89	1,905	85,04
90	0,158	7,05



Figura 8 Pocillos antes de colocar solución stop.

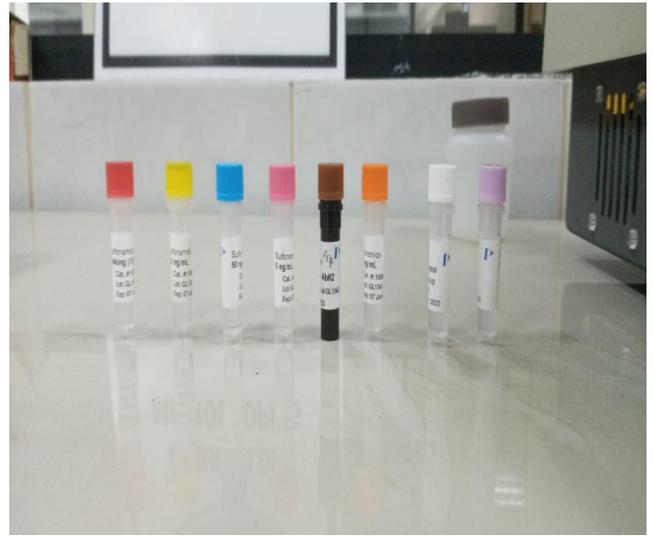


Figura 7 Colocación de solución stop.

