



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Determinación del periodo de retiro de enrofloxacina
durante una crianza de cuyes (*Cavia porcellus*)**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Tomás Michael ORTIZ GARAY

ASESOR

Daphne Doris RAMOS DELGADO

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Ortiz T. Determinación del periodo de retiro de enrofloxacin durante una crianza de cuyes (*Cavia porcellus*) [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2019.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Tomás Michael Ortiz Garay
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46369402
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-4775-6262
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Daphne Doris Ramos Delgado
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	07607293
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-3176-804X
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Miguel Angel Vilca López
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07842430
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	José Luis Rodríguez Gutiérrez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	40523536
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	José Manuel Angulo Tisoc
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	44081403
Datos de investigación	

Línea de investigación	B.4.3.2. Inocuidad de los alimentos de origen animal
Grupo de investigación	Salud Pública y Salud Ambiental
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Programa de Promoción de Tesis de Pregrado. E18030044-PTPGRADO.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: IVITA – Maranganí / FMV – Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Cusco Provincia: Canchis Distrito: Maranganí Centro Poblado: Maranganí Urbanización: - Manzana y lote: - Calle: - Latitud: -14.35667 Longitud: -71.16787
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Junio - 2018
URL de disciplinas OCDE	Salud pública, Salud ambiental https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.05 Abuso de sustancias https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.14



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **miércoles 13 de noviembre de 2019**, a las **11:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **0207-EPMV/FMV-2019**, integrado por los siguientes profesores:

MV. Mg.	Miguel Angel Vilca López	Presidente del Jurado
MV. Dra.	Daphne Doris Ramos Delgado	Asesora de la Tesis
MV. Dr.	José Luis Rodríguez Gutiérrez	Miembro del Jurado
MV. Mg.	José Manuel Angulo Tisoc	Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: **ORTIZ GARAY, TOMÁS MICHAEL** para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

“DETERMINACIÓN DEL PERIODO DE RETIRO DE ENROFLOXACINA DURANTE UNA CRIANZA DE CUYES (*Cavia porcellus*)”

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesora de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECIOCHO (18)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **12:05 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

Miguel Ángel Vilca López MV. Mg. Prof. Principal. D.E



UNMSM

Firmado digitalmente por RAMOS
DELGADO Daphne Doris FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 05.11.2021 11:23:56 -05:00

Daphne Doris Ramos Delgado: MV. Dra. Prof. Principal. D.E



UNMSM

Firmado digitalmente por
RODRIGUEZ GUTIERREZ Jose Luis
FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 10.11.2021 11:50:04 -05:00

José Luis Rodríguez Gutiérrez: MV. Dr. Prof. Asociado. D.E



UNMSM

Firmado digitalmente por ANGULO
TISOC Jose Manuel FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 03.11.2021 15:13:58 -05:00

José Manuel Angulo Tisoc: MV. Mg. Prof. Auxiliar. T.C



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
Facultad de Medicina Veterinaria
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



Trabajo sustentado y aprobado ante el Jurado designado por la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria mediante Resolución Directoral N° 0205-EPMV/FMV-2019.

PRESIDENTE:

.....
MIGUEL ANGEL VILCA LÓPEZ

MIEMBROS :



Firmado digitalmente por RAMOS
DELGADO Daphne Doris FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 05.11.2021 11:23:56 -05:00

.....
DAPHNE DORIS RAMOS DELGADO
ASESORA DE LA TESIS



Firmado digitalmente por
RODRIGUEZ GUTIERREZ Jose Luis
FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 10.11.2021 11:50:04 -05:00

:
JOSÉ LUIS RODRÍGUEZ GUTIÉRREZ



Firmado digitalmente por ANGULO
TISOC Jose Manuel FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 03.11.2021 15:13:58 -05:00

:
JOSÉ MANUEL ANGULO TISOC

San Borja, 17 de febrero de 2020

V° B°



Firmado digitalmente por RAMOS
DELGADO Daphne Doris FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 05.11.2021 11:23:56 -05:00

.....
Dra. Daphne Ramos Delgado
Directora
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

DEDICATORIA

A mis amados padres, Gloria Teresa y Tomás, gracias por apoyarme en todo momento, desde mucho antes de ingresar a la UNMSM hasta el cúlmimo de esta etapa, pero sobre todo gracias infinitas por darme la oportunidad de hacer realidad mis sueños y dejar que tome mis propias decisiones.

A mi madre, por ser la voz que hace que pise tierra, por ser mi mejor amiga, quien en mis peores momentos estuvo ahí y me brindó de su energía, que la caracteriza, para así seguir el camino, te amo.

A mi padre, por siempre darme esos consejos de visión de vida y su increíble facilidad de dar solución a cualquier problema, sin duda alguna es y será siempre mi admiración.

A mi hermano Jesús, por el ser apoyo que uno necesita en esos momentos donde solo nos tenemos el uno al otro, definitivamente, mil gracias, hermano querido.

En memoria de mi querida abuela María Rosalía López Chávez de Garay, quien me enseñó tanto en tan poco tiempo, cuyas hermosas vivencias las tendré por siempre en mis recuerdos y sus consejos en mi continuo vivir.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi asesora de tesis, la doctora Daphne Doris Ramos Delgado por haberme brindado su apoyo constante, sus recomendaciones, sabiduría y guiarme en el transcurso de la investigación, así como también tener toda la paciencia del mundo durante el desarrollo de la tesis.

Agradecer al Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental y todo su personal técnico, a aquellos(as) quienes estuvieron en su momento, por darme las facilidades para la realización de este trabajo de investigación.

Agradezco al Dr. R. Lucas, Dra. Rosa Gonzales y Dr. José Luis Rodríguez, por brindarme la ayuda y el conocimiento necesario en el desarrollo de este proyecto.

Un agradecimiento a la estación IVITA-Maranganí, en especial al Dr. José Angulo Tisoc, por su ayuda y consejos profesionales, a los técnicos y maestros que colaboraron en la realización de la parte práctica de mi estudio.

A mis docentes, por ser los artífices de mi formación profesional y personal, gracias por la presión ante cada curso, prácticas y tareas, pero sobretodo el hacer hincapié que el ser médico veterinario sanmarquino es un honor y orgullo, pero hay que llevarlo con mucha responsabilidad y humildad.

A Helen, por darme tu sincera amistad y apoyo durante estos años universitarios, estaré siempre en deuda contigo, gracias miles.

A mí amada Tuna de Medicina Veterinaria – UNMSM, por darme grandes enseñanzas y presionarme en mejorar siempre como persona y académicamente. Gracias por estar siempre en esos momentos donde uno necesita recargar las energías, y qué mejor forma que al compás de una guitarra, bandurria, pandero y voz, ¡aúpa tuna!

ÍNDICE

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iii
LISTA DE CUADROS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFIA	5
2.1 Actualidad en la crianza de <i>Cavia porcellus</i>	5
2.1.1 Distribución y población del cuy a nivel nacional	6
2.1.2 Deficiencias en la producción de <i>Cavia porcellus</i>	7
2.2 Antibióticos promotores de crecimiento.....	7
2.2.1 Enrofloxacina	8
2.2.2 Espectro	9
2.2.3 Farmacodinámica	9
2.2.4 Farmacocinética	10
2.2.5 Metabolismo y excreción	10
2.2.6 Tiempo de retiro	11
2.3 Reglamento (FDA u OMS) normativas	13
2.3.2 Residuos de antibióticos	14
2.3.3 Resistencia antimicrobiana y daños en salud humana	15
2.4 Método de ELISA (Enzyme Linked ImunoSorbent Assay).....	17

2.4.1	Anticuerpos Marcados	17
2.4.1.1	ELISA Directo.....	17
2.4.1.2	ELISA Indirecto	18
2.4.1.3	ELISA Sandwich	18
A)	ELISA Sandwich Directa	18
B)	ELISA Sandwich Indirecta	19
2.4.2	Anticuerpos No Marcados.....	19
2.4.2.1	ELISA Competitivo.....	19
2.4.3	Método de análisis Test de ELISA Enrofloxacin	20
2.4.3.1	Descripción general del procedimiento	20
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1	Tiempo y lugar.....	22
3.2	Tamaño de muestra.....	23
3.3	Instalaciones, equipos y materiales	23
3.3.1	Material biológico	23
3.3.2	Equipos empleados.....	23
3.3.3	Otros materiales	23
3.4	Recursos humanos	24
3.5	Diseño experimental	24
3.5.1	Fase 1: Crianza de animales con Enrofloxacin	25
3.5.2	Fase 2: Retiro de Enrofloxacin y beneficio de cuyes.....	25
3.5.3	Fase 3: Procesamiento de muestras de músculo.....	26
3.5.3.1	Preparación de reactivos	26

3.5.3.2	Preparación de las muestras.....	27
3.5.3.3	Protocolo ELISA	27
3.5.4	Fase 4: Análisis de información	29
IV.	RESULTADOS	32
V.	DISCUSIÓN	36
VI.	CONCLUSIONES.....	39
VII.	RECOMENDACIONES.....	40
VIII.	BIBLIOGRAFÍA	41

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar el periodo de retiro de enrofloxacin durante una crianza de cuyes (*Cavia porcellus*) en el distrito de Maranganí (Canchis - Cusco). Para ello, se utilizaron 51 cuyes (25 hembras y 26 machos) de la raza Perú. Los animales fueron administrados con enrofloxacin al 10%, vía oral, a razón de 10 mg/kg (0.1 ml/kg PV) cada 24 horas por un periodo de 10 días. Inmediatamente después de la última administración del antibiótico, fueron seleccionados aleatoriamente tres animales para su beneficio cada dos horas, desde las cero hasta las 32 horas post retiro del fármaco, tomándose muestras del músculo diafragma para la detección de la enrofloxacin. El análisis y cuantificación de los residuos del antibiótico se realizó empleando el Kit comercial ELISA (Max Signal®) específico para enrofloxacin. La concentración máxima de enrofloxacin en carne de cuy ($1425 \pm 53.4 \mu\text{g/kg}$) se determinó a las 12 horas después de la última administración del fármaco. Posteriormente, las concentraciones del metabolito descendieron, siendo de $80.8 \pm 6 \mu\text{g/kg}$ a las 28 h, valor por debajo de $100 \mu\text{g/kg}$ que se podría considerar como un límite de referencia para la carne de animales de abasto. Bajo las condiciones de este estudio, se sugiere un periodo de retiro de dos días para el cuy tratado con enrofloxacin.

Palabras clave: *Cavia porcellus*, enrofloxacin, antibiótico, ELISA, tiempo de retiro

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the enrofloxacin withdrawal period during a guinea pig (*Cavia porcellus*) breeding in the district of Marangani (Canchis - Cusco). For this, 51 guinea pigs (25 females and 26 males) of the Peru breed were used. The animals were exposed to enrofloxacin, administered orally, at a rate of 10 mg/kg/day (0.1 ml/kg BW) each 24 hours for a period of 10 days. Immediately after the last administration of the antibiotic, three animals were randomly selected to be slaughtered every two hours, from 0 to 32 hours post administration of the antibiotic, taking samples of the diaphragm muscle for the detection of enrofloxacin. The analysis and quantification of the antibiotic residue was performed using the commercial ELISAKit (Max Signal®) specific for enrofloxacin. The maximum concentration of enrofloxacin in guinea pig meat ($1425 \pm 53.4 \mu\text{g/kg}$) was determined 12 hours after the last administration of the drug. Concentrations of the metabolite subsequently decreased, and were $80.8 \pm 6 \mu\text{g/kg}$ at 28 h, a value below $100 \mu\text{g/kg}$, which could be considered a reference limit for meat from livestock. Under the conditions of this study, a withdrawal period of two days is suggested for guinea pigs treated with enrofloxacin.

Key words: *Cavia porcellus*, enrofloxacin, antibiotic, ELISA, withdrawal period

LISTA DE ABREVIATURAS

° C	Grados centígrados
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
OIE	Oficina Internacional de Epizootias
LMR	Límite Máximo Residual
MINAGRI	Ministerio de Agricultura
ng	Nanogramo
kg	Kilogramo
ug	Microgramo
DIGESA	Dirección General de Salud Ambiental
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drugs Administration
ENR	Enrofloxacin

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Título	Pág.
1	Tiempo de retiro de enrofloxacin en especies de consumo de carne	13
2	Límites máximos permitidos de enrofloxacin en carnes de consumo	14
3	Densidades ópticas dadas por el ESPECTROFOTÓMETRO	29
4	Promedio de Densidades Ópticas por cada dos horas de beneficio	30
5	Concentraciones de metabolito enrofloxacin por cada dos horas de beneficio en cuyes.	31

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título	Pág.
1	Estructura química de la Enrofloxacin	9
2a	Figura 2a. Determinación de LMR en un diagrama de concentración versus tiempo	11
2b	“Utilización de los datos de estudios de depleción para la determinación del LMR”	12
3	Esquema de desarrollo de estudio experimental	24
4	Secuencia de beneficio en cuyes cada 2 horas	26
5a	Curva de calibración de estándares	32
5b	Gráfico de variación de concentraciones de metabolito activo de enrofloxacin en horas.	33
6a	Concentración de enrofloxacin ($\mu\text{g/kg}$) en función de su absorbancia relativa (%)	34
6b	Gráfico de pico máximo en la concentración de metabolito de enrofloxacin y último valor de metabolito menor al LMR.	35

I. INTRODUCCIÓN

El cuy (*Cavia porcellus*) es una especie que se consume con mayor frecuencia en la Sierra del Perú. La aceptación de esta especie comprende zonas desde la costa hasta la selva, producto del éxodo de la población andina que llevaron junto a ellos sus tradiciones y modo de vida. En estos últimos años se ha logrado impulsar y promocionar el consumo de esta carne en ciudades densamente pobladas de toda la costa peruana debido a sus bondades que son principalmente de tipo saludable, siendo este un alimento rico en proteínas, de alto valor biológico, muy bajo en grasas y colesterol. Asimismo, se viene promocionando el comercio al exterior de la carne de cuy desde inicios del año 2000 mediante carcasas congeladas empaquetadas al vacío con diferentes puntos de compra a nivel mundial como Estados Unidos y Japón (MINAGRI, 2015).

El uso de fármacos es esencial durante la etapa de producción de las diferentes especies animales, siendo principalmente destinados a acciones terapéuticas y preventivas con la iniciativa

de evitar males de carácter no contagioso sobre la salud, siendo requeridos en algunos casos para la administración como promotores de aceleración de crecimiento (Kilinc *et al*, 2007). En los últimos años el sector agroalimentario se ha enfrentado a los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, los cuales en muchos casos son difíciles de tratar debido a que son producidas por cepas que son resistentes a los antibióticos, poniendo de forma notoria el uso indebido de estos medicamentos durante el desarrollo de las actividades agropecuarias y el desinterés de cumplir los periodos de retiro de los mismos (Lozano *et al*, 2008).

En diversas partes del mundo la resistencia a los antibióticos es un serio problema que aqueja a la salud pública, puesto que muchas enfermedades carecen de respuesta a los antibióticos de uso diario (Montalvo y otros, 2004), por su utilización indiscriminada en personas y en la producción de animales para consumo humano (Serrano, 2009). La administración en forma desmesurada de estas sustancias genera una acción selectiva de microorganismos que favorecen la expansión de cepas bacterianas renuentes a los antibióticos (Fernández, 2009). Esto es provocado debido a que los genes de resistencia procederían de variaciones espontáneas y quedarían fijadas genéticamente (Trolldenier, 1980). Algunas drogas veterinarias son potencialmente peligrosas que organizaciones como la **Food and Drugs Administration (FDA)** prohíbe totalmente su uso en animales para consumo humano, como es el caso del cloranfenicol y los nitrofuranos.

La enrofloxacin (ENR), perteneciente a la familia de las fluoroquinolonas de segunda generación, “presenta una acción bactericida contra las bacterias Gram negativas y frente a cocos Gram positivos” según Martínez *et al.*, 2006; Otero *et al.*, 2001a; 2001b. Luego de su administración por vía oral, es bien absorbida y diseminada a nivel tisular, siendo posteriormente metabolizada en el hígado generando así su principal metabolito activo, la Ciprofloxacina (CIP) (Otero *et al.*, 2001b).

El uso indiscriminado de promotores de crecimiento que contienen pequeñas dosis de antibióticos, sin acatar la dosificación y utilidades autorizadas en el registro sanitario, pueden provocar la presencia de residuos de fármacos veterinarios en niveles superiores sobre los diferentes alimentos destinados al consumo humano (Gómez, 2014).

En diversos países, es común el suministro de antibióticos en el agua y alimento de los animales de abasto. Si bien estos fármacos se han recomendado con fines terapéuticos, en la actualidad es frecuente su uso con fines preventivos (OMS, 2018). Cuando se utilizan antibióticos relacionados a la medicina humana, las bacterias potencialmente patógenas generan resistencia cruzada y se instauran como un peligro para el hombre. Diversos expertos en salud pública mundial concuerdan en que las bacterias resistentes a antibióticos se originaron por el empleo de medicamentos veterinarios en la producción animal, y se transmitieron al hombre por los alimentos. Por lo general, las infecciones con bacterias resistentes son más severas y difíciles de tratar, duraderas y potenciales causantes de septicemias, infecciones urinarias y muerte del hombre; dentro de estas cepas tenemos a *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Campylobacter* que son resistentes a casi todos los antibióticos betalactámicos, incluyendo penicilinas y cefalosporinas de tercera y cuarta generación (FAO, 2011).

A pesar que se recomienda el uso de fármacos con la autorización de un veterinario o profesional de la materia, el uso de estos medicamentos se viene trabajando informalmente en este sistema productivo desde muchos años atrás y sumado a que nunca se ha realizado hasta la fecha un diagnóstico correcto y un tratamiento objetivo acorde a lo diagnosticado. El “Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en la Crianza Comercial de Cuyes del Ministerio de Agricultura” (2010), sugiere realizar tratamientos solo cuando sea estrictamente necesario y no aplicar antibióticos sin previa autorización o sugerencia de un médico veterinario. Sin embargo, existen estudios que recomiendan el uso de enrofloxacin y cloranfenicol para el tratamiento de salmonelosis en cuyes, debido a que es una enfermedad con alta tasa de mortalidad (Matssura *et al.*, 2010).

Son escasos los estudios en Perú orientados a determinar los remanentes de fármacos veterinarios en carne fresca de cuy; sin embargo sí se han realizado estudios sobre otras especies. Villalobos (2018), determinó la existencia de restos de metabolito de ciprofloxacina en carne de pollo, en un mercado del departamento de Trujillo, donde se utilizó un test de ELISA específico para enrofloxacin, resultando un total de 56% afectadas de 25 muestras tomadas. Las concentraciones tuvieron valores desde 0.00 µg/kg a 41.20 µg/kg, no obstante, aquellos remanentes de metabolitos detectados se encuentran por debajo del LMR por la “Norma sanitaria de Medicamentos Veterinarios” en diversos productos de consumo humano (MINAGRI, 2009).

Lamentablemente, se carece de estudios relacionados al periodo de retiro de antibióticos en carcasa de cuy, sin embargo existen otras especies en las que se investigó este aspecto, es así que San Martín (2009), evaluó en Chile el tiempo de retiro de cuatro formulaciones de enrofloxacin en aves de corral según diferentes límites máximos de residuos. Se trabajó con Doscientos treinta y cuatro pollos de engorde que fueron distribuidos en cuatro grupos; las formulaciones se administraron por vía oral a razón de 10 mg / kg/ día durante cinco días. Después del tratamiento, seis pollos de cada grupo y dos controles fueron sacrificados diariamente hasta el día nueve post-tratamiento. Se recogieron muestras de músculo e hígado, y se analizaron usando cromatografía líquida con identificación por detección masiva (HPLC MS / MS), obteniendo un periodo de depleción de enrofloxacin en músculo mayor a 10 días.

El presente estudio buscó cuantificar la presencia de residuos y determinar el tiempo de depleción de la enrofloxacin en carne del cuy, el cual es usado como promotor de crecimiento de forma indiscriminada y que podría ocasionar un impacto negativo en la salud pública.

II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

2.1 Actualidad en la crianza de *Cavia porcellus*

El cuy (*Cavia porcellus*) es un animal doméstico distribuido en diversos países de América Latina siendo aprovechado mediante la crianza en cautiverio. “Este espécimen, ha constituido una fuente alimenticia y económica muy importante para el poblador de la sierra” (Cajas, 2008). El cuy es un animal oriundo de las áreas alto-andinas del Perú, Ecuador, Colombia y Bolivia, criado con la finalidad de conseguir carne. “Es un producto alimentario de alto valor nutricional y de bajo gasto de producción, contribuyendo a la seguridad alimentaria de los pobladores de la sierra de mínima economía” señala Ministerio de Agricultura y Riego, 2008. La población de estos animales en los países antes mencionados data de un aproximado de 35 millones de cuyes,

constituyendo el Perú, el país que produce anualmente 16 500 toneladas de carne producto del faenamiento de más de 65 millones de cuyes, generados por una población de aproximadamente 22 millones de estos roedores (Chauca, 1997). Las crianzas en grandes masas se encuentran diseminadas en la mayor parte de Perú y Ecuador; en tanto los países de Bolivia y Colombia están señaladas solo en zonas focalizadas, por lo que evidencian una menor densidad poblacional de cuyes (Ministerio de agricultura y riego, 2008).

Para la alimentación del poblador rural andino, sin lugar a dudas el cuy constituye el de mayor popularidad (Chauca, 1997). El requerimiento de este animal como alimento ha migrado desde la costa hasta la selva, por efecto del éxodo de la población de la sierra que llevaron consigo sus costumbres y tradiciones. La dirección general de promoción agraria en el año 2003 señaló que: “El consumo de cuy en el Perú se aproximó a 0.607 kg por habitante para el 2003, en base a un estimado de 16,500 TM de carne al año”; éste consumo tuvo porcentajes muy preocupantes a nivel nacional sobrepasando únicamente al de consumo de carne de caprino, “siendo su consumo el de 0,25kg /hab./año” según el Ministerio de agricultura y riego, 2008.

2.1.1 Distribución y población del cuy a nivel nacional

De acuerdo a la información del MINAGRI (Dirección general de promoción agraria, 2003), se encontró un aproximado de 23'240,846 cuyes ubicándose la mayor cantidad en la zona alto andina con 21'462,950 seguidos de la zona de la costa con una población de 1'439,746 y por último la zona selvática con 338,150. El Ministerio de agricultura y riego para el año 2008, informó que: “El fenómeno de las migraciones poblacionales de forma constante, que se dan del área rural andino hacia las ciudades, durante las últimas décadas no han abandonado sus actividades de crianza de éste espécimen, por lo que se estima que en 90,000 familias del casco urbano se mantiene el cuidado de estos animales con un estimado de más de un millón de cuyes en la ciudad”.

“En el Perú, las principales regiones productoras de estos roedores domésticos son: Ancash, Apurímac, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín, La Libertad y Lima; contando con la región de Cajamarca como la zona de mayor índice productivo”, según Aguilar *et al.*, 2011. Se estima que cerca del 74% de la ciudadanía de Lima tiene una alta demanda por la carne de cuy, que sumado al constante uso de esta carne en áreas andinas provoca insatisfacción por parte de las poblaciones de las grandes ciudades (Ministerio de agricultura y riego, 2008). De igual manera, el consumo de este producto en el exterior va en constante alza (especialmente por ecuatorianos y peruanos que viajaron hacia EEUU), exigiendo producto de la demanda, pesos más elevados de la carcasa del cuy a los estándares comerciales ofrecidos en el Perú, así como la calidad y constancia de abastecimiento (MINAGRI, 2008).

2.1.2 Deficiencias en la producción de *Cavia porcellus*

La tecnología comúnmente usada en la producción de cuyes no está inmersa sobre los nuevos requerimientos que los mercados de exportación e importantes mercados nacionales exigen (MINAGRI, 2008). A su vez, se presentan diversas problemáticas en cuanto a la explotación, como por ejemplo: deficiente manejo productivo, reproductivo y alimenticio; defectuoso sistema de prevención y control sanitario; baja calidad y cantidad en animales reproductores; pobre desarrollo de comercialización y mínimo conocimiento en la parte técnica de los productores (INIA, 2011). La salud intestinal en balance con una microbiota intestinal forma parte importante para la producción del cuy de manera segura evitando costos desmesurados y daños ambientales. La gran importancia en la nutrición moderna del animal es promover y mantener una adecuada salud gastrointestinal para que de esa forma la productividad esté segura y así se logre conseguir que el mercado global obtenga productos confiables y de buena calidad (Martínez, 2011).

2.2 Antibióticos promotores de crecimiento (APC)

Los APC son utilizados para señalar agentes que presenten actividades antimicrobianas, administrados a dosis estandarizadas en partes por millón y durante un determinado lapso de tiempo (Soraci *et al.*, 2010). Dichos fármacos son usados desde hace varios años como aditivos

sobre alimentos, en concentraciones mínimas, con el fin de elevar la productividad, acelerar el crecimiento, mejorar la eficacia alimenticia y disminuir la morbilidad y mortalidad provocadas por infecciones (Colín *et al.*, 1994).

Soares en 1996, mencionó que aún no se tiene información sobre el determinado modo de acción de los APC. Se conoce que estos agentes presentan como principales acciones: (a) Generar una disminución de amonio, por una minoración de su volumen ya existente. (b) Evitar el metabolismo de las bacterias, por lo que el huésped logra aminorar la disputa con los microorganismos frente a elementos nutritivos. Aquellos antibióticos que se desempeñen como agentes promotores de crecimiento tienen caracteres activos contra los microorganismos grampositivos, interfiriendo sobre la síntesis de proteínas, ADN, pared celular, y a nivel intestinal evitando la formación de la microbiota patógena (Soares, 1996).

El uso prolongado de estos medicamentos (antibióticos), generalmente aplicados sobre las raciones de la alimentación animal, son empleados también en los seres humanos o en animales frente a enfermedades, estos antibióticos pueden desencadenar resistencia a los microorganismos y provocar un fallo en terapia de ayuda (Colín *et al.*, 1994). La concentración de microorganismos a nivel intestinal, promueve el traspaso de resistencias entre estos agentes. En animales, sobre todo en los rebaños, la resistencia llega a ser difundida simplemente por contacto fecal. “Esta resistencia antimicrobiana puede llegar al hombre de forma directa, a través de tratamientos (uso de antibióticos) e indirectamente por la ingesta de carne y subproductos” señala Shiva, 2007.

2.2.1 Fluoroquinolona: Enrofloxacin

Deriva del ácido carboxílico y cuya denotación química corresponde a 1-ciclopropil-7-(4-etil-1-piperazinil)-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-3 ácido quinolincarboxílico (Ver figura 1). Su forma es de cristal presentando una coloración ámbar. La enrofloxacin se presenta en punto de

fusión entre 219–221°C, donde en el agua posee una ligera solubilidad. Una característica especial es que no debe ser congelada y tampoco ser expuesta a la luz solar (Sumano y Ocampo, 2006).

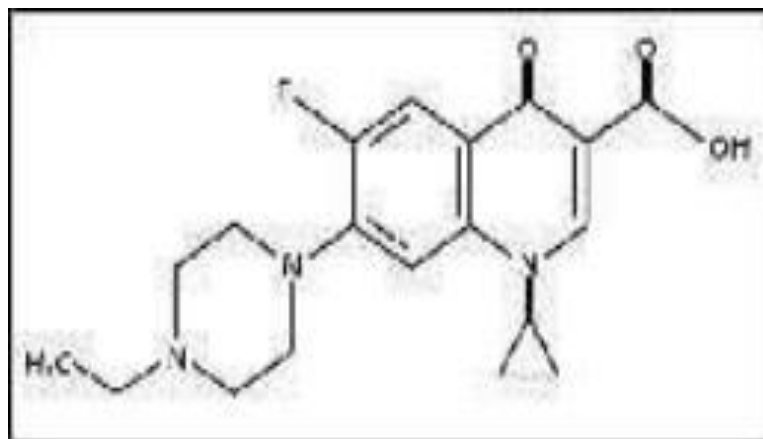


Figura 1. Estructura química de la Enrofloxacin. (Adams, 2001)

2.2.2 Espectro

Esta fluoroquinolona presenta una extensa gama de acción. A su vez tiene una gran eficiencia contra una diversa cantidad de bacilos Gram de tipo negativos (“*Escherichia coli*”, “*Salmonella spp*”, “*Haemophilus spp*”, “*Pasteurella spp*”), con exclusión de “*Pseudomona aeruginosa*”. Es menos eficaz frente a bacterias Gram de tipo positivas como los “*Streptococcus spp*”, “*Staphylococcus spp*” y la “*Erysipelotrix rhusiopathiae*”, sin embargo su efectividad es cuantificable. Una característica importante es la acción contra micoplasmas, inclusive a mínimas concentraciones estando comprendidas entre 0.01–0.5 mg/ml (Sumano y Gutiérrez, 2000).

2.2.3 Farmacodinámica

Este antibiótico y su principal metabolito (ciprofloxacina), se desempeñan como bactericidas inhibiendo la proteína girasa del DNA (topoisomerasa II) evitando de esta forma la replicación del ADN bacteriano; también tiene la capacidad de detener la división y respiración celular, asimismo obstruyen los desarrollos celulares y modifican la singularidad de la membrana.

Los fármacos pertenecientes a la familia de las fluoroquinolonas, como la enrofloxacin, ingresan a las células a través de porinas acumulándose de forma casi inmediata en las bacterias, sin embargo la eficiencia de estos pasajes proteicos podría generar problemas por rechazar el ingreso del antibiótico debido a un sistema de transporte dependiente de energía, aun así la eficiencia de los medicamentos pertenecientes a las fluoroquinolonas son mediados por sus niveles de concentración (Sumano y Ocampo, 2006).

La enrofloxacin tiene efecto post-antibiótico, razón por la cual evita la multiplicación de los patógenos. La proteína girasa del ADN de animales y mamíferos superiores no logra ser dañada por estos fármacos. Esta fluoroquinolona presenta carácter bactericida a razón de su concentración mínima inhibitoria (Sumano y Ocampo, 2006).

2.2.4 Farmacocinética

La imbibición de este antibiótico es mejorada por la suma del grupo etilo a la molécula, sin embargo resta su acción frente a "*Pseudomonas spp*". Esta fluoroquinolona expresa potencia y cinética similarmente a la danofloxacin, no obstante resalta menos sobre zonas pulmonares. Este medicamento se empezó a vender antes que la danofloxacin, por tal razón es que se tiene mayor información sobre sus utilidades. Al ser administrado por vía oral expresa una elevada biodisponibilidad logrando una buena inserción sobre los tejidos. En becerros y especímenes monogástricas se conoce que su absorción es más acelerada (Sumano y Ocampo, 2006).

2.2.5 Acción metabólica y excreción

Los compuestos pertenecientes a la familia de las fluoroquinolonas son descartados del organismo vía metabolismo hepático y renal principalmente. Generalmente estos fármacos son parcialmente asimilados a nivel del hígado, y eliminadas a través de la bilis y vía urinarias en concentraciones elevadas del componente activo de enrofloxacin (droga inalterada o metabolito activo). Los canales generalmente metabólicos de estos compuestos son: alquilación, glucuronización, oxidación, sulfoxidación, acetilación y ruptura del anillo piperazínico (1, 4). En

los animales la eliminación renal se torna cambiante, de la misma forma se desencadena una filtración glomerular para la zona que no presenta alguna ligación, y también secreción tubular activa. Los altos niveles de concentraciones en las vías urinarias son logradas por la filtración glomerular y la secreción tubular (Otero *et al*, 2000).

2.2.6 Tiempo de retiro

Es la etapa señalada para cortar la administración de un determinado fármaco de uso veterinario, con el hecho de basarse sobre el límite máximo de residuos indicado (Figura 2a). También es indicado como el periodo cumplido entre la última aplicación de un fármaco y el instante en el que se pueda beneficiar al animal (como fuente de alimento) y no provoque peligro alguno (Lozano, 2008). Para poder señalar periodo de espera (diferentes especímenes problema) se es analizado mediante la información recabada por la línea de estadística de regresión. Sumano en el 2006 menciona que: “El tiempo de retiro es el periodo donde el límite superior del intervalo de tolerancia al 95% estimado con un intervalo de confianza al 95% es menor al Límite Máximo de Residuos (LMR). Si este tiempo no corresponde a un día completo, el período de retiro estimado se redondea hasta el día siguiente. Por ejemplo, si el período de retiro estimado es 6,3 días, entonces éste se fija en 7 días”. En el cuadro 1 apreciamos los periodos de retiro según los diferentes animales de abasto. Es de hincapié conocer que “la determinación de este periodo de los fármacos veterinarios está supeditados a los canales de administración y su formulación” indica la FAO-OMS, 2006.

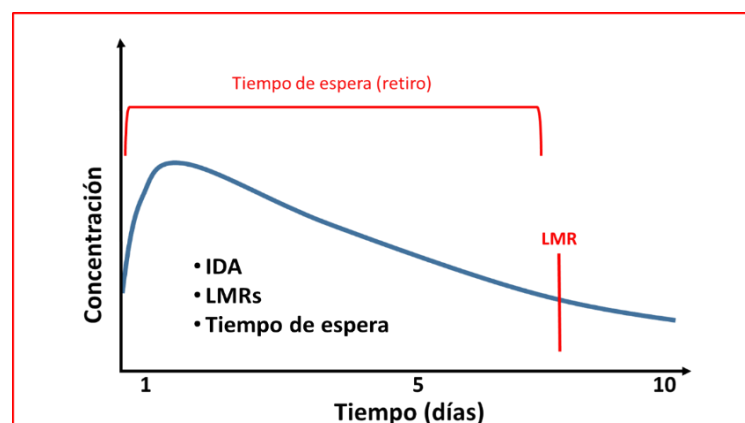


Figura 2a. Determinación de LMR en un diagrama de concentración versus tiempo

La figura 2, expresa la información del periodo de depleción del residuo marcador sobre un tejido conseguidos en cuatro trabajos distintos a una escala semi-log, aceptándose concentraciones con un ordenamiento logarítmico normal y un porcentaje deplecivo de orden primario produciendo una recta lineal. Usando la información de niveles de concentraciones transformados logarítmicamente se obtiene la línea continua que viene a ser la recta de regresión. La línea punteada expresa el periodo de confiabilidad al 95% superior sobre el 95% de los diferentes valores previstos como consecuencia de los tratamientos con igual similitud del mismo espécimen y raza. Para fijar el punto más apropiado en esta línea, el Límite Máximo de Residuos de Medicamentos Veterinarios (LMRMV), se calcula la ingesta diaria máxima teórica (IDMT) y se equilibra con los caracteres del rendimiento del ensayo analítico propuesto (FAO-OMS, 2006).

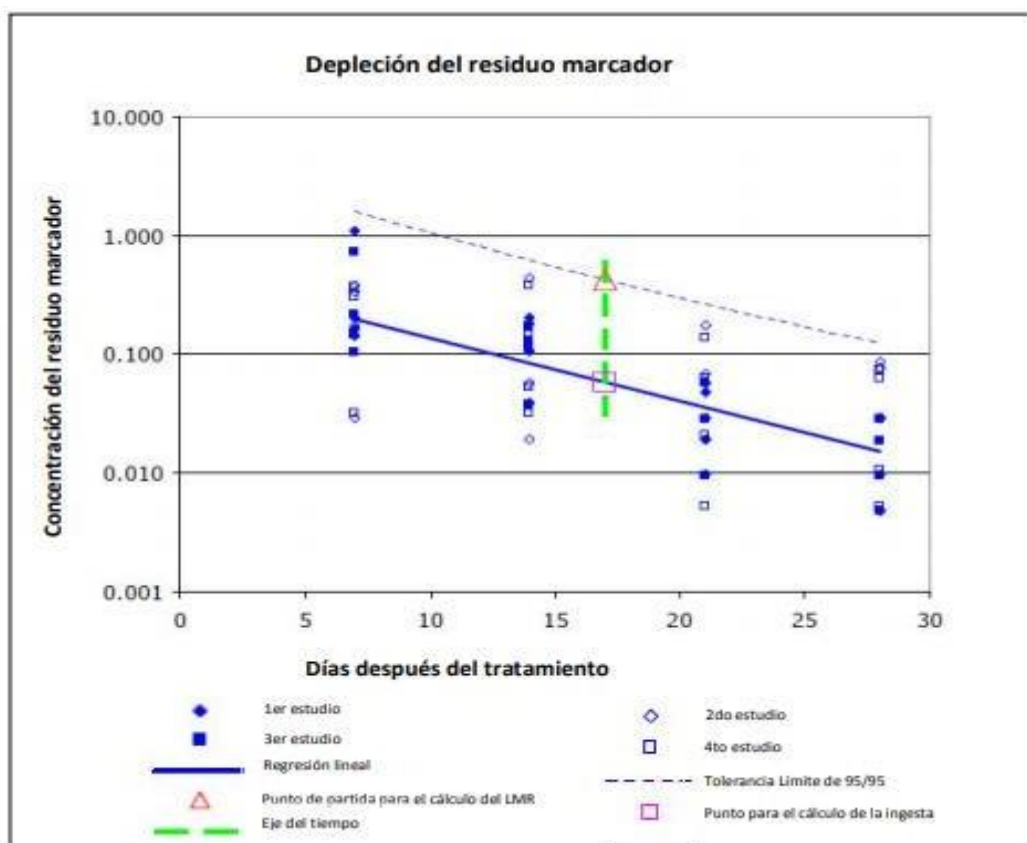


Figura 2b. Esquema de determinación del LMR (FAO-OMS 2006)

Cuadro 1. Tiempo de retiro de enrofloxacin en especies de consumo de carne

Antibiótico	Especie	Tiempo de retiro (días)
Enrofloxacin	Bovino	7 - 10
	Caprino	7 - 10
	Ovino	7 - 10
	Porcino	7 - 10
	Conejos	7 - 10
	Aves	10 - 13

Fuente: Ortiz T, 2019.

2.3 Reglamentos (FDA u OMS) normativas

La Food Drugs Administration (FDA) y el Servicio de Inocuidad e Inspección de Alimentos (FSIS) del Departamento de Agricultura de los EE.UU. (USDA), contemplan la dirección de controlar y regular los restos de fármacos (antibióticos) en las diferentes muestras de carne como ganado bovino, aves de corral y en el huevo junto con sus derivados. Analizan tácticas con el fin de evitar que estos restos de antibióticos puedan sobrepasar una tolerancia marcada y así ingresen dentro del aprovisionamiento de alimentos. Inserta algunos ensayos de fármacos tanto aprobados como no aprobados cuya utilidad se dispone de información o se presume en especímenes usados para la producción alimentaria. El FSIS (siglas en inglés) registra algunas muestras problema de los tejidos cárnicos con la finalidad de comprobar si existen residuos de fármacos e informa inmediatamente a la FDA. La Organización Mundial de la Salud (OMS), la FAO (siglas en inglés), la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) y más de 14 organizaciones internacionales gubernamentales y no gubernamentales así como sociedades activistas de profesionales han diseñado un plan de sugerencias para disminuir el sobreuso y falsa utilidad de antimicrobianos sobre los animales, con el hecho de preservar y cuidar la salud humana (Organización Mundial de la Salud, 2005).

2.3.1 Residuos de antibióticos

Los remanentes de antibióticos hallados en los alimentos de origen animal son productos de muy poca calidad y componen peligro serio a los consumidores especialmente en su salud, provocando una aguda o crónica toxicidad, de la misma forma desencadenar alteraciones carcinogénicas, desorganización en el crecimiento corporal, reacciones alérgicas y anormalidades en la resistencia antimicrobiana, y otros (Lozano, 2008). En el cuadro 2 se puede observar los valores máximos permitidos para carnes de animales de abasto según el reglamento de la Unión Europea.

Cuadro 2. Límites máximos permitidos de enrofloxacin en carnes de consumo.

Residuo marcador	Especie animal	LMR	Tejidos diana	Otras disposiciones
Enrofloxacin	Suma de Enrofloxacin y de ciprofloxacina	100 ug/kg	Músculo	Para los peces, el LMR en el músculo se refiere a "músculo y piel en proporciones naturales". Los LMR en la grasa, hígado y riñón no se aplican a los peces.
		100 ug/kg	Grasa	
		300 ug/kg	Hígado	
		200 ug/kg	Riñón	
		100 ug/kg	Leche	
		100 ug/kg	Músculo	
		100 ug/kg	Grasa	
		200 ug/kg	Hígado	
		300 ug/kg	Riñón	
		100 ug/kg	Músculo	
	Aves de corral	100 ug/kg	Piel y Grasa	No debe utilizarse en animales que producen huevos para consumo humano.
		200 ug/kg	Hígado	
		300 ug/kg	Riñón	
	Todas las demás especies destinadas a la producción de alimentos	100 ug/kg	Músculo	
		100 ug/kg	Grasa	
		200 ug/kg	Hígado	
		200 ug/kg	Riñón	

Fuente: Reglamento (UE), 2009.

2.3.2 Resistencia antimicrobiana y daños en la salud humana

Desde principios de los 60's (y mucho tiempo antes para otros medicamentos antimicrobianos), la aparición de resistencias ha sido un serio dilema en la terapia con antibióticos, volviéndose usual estas resistencias en la familia de las quinolonas a mediados del año 1985 (Picco *et al.*, 2009).

La resistencia bacteriana viene incrementándose considerablemente, desafiando la capacidad de manejar infecciones microbianas. Estas enfermedades, como por ejemplo la tuberculosis (TBC), son cada vez más complicadas de ser tratadas, debido a la disminución de la eficacia de los medicamentos, generando una resistencia a antibióticos por el abandono reiterativo del tratamiento, agotando de esta manera los medicamentos que tenemos disponibles para este patógeno (Organización Mundial de la Salud, 2000).

En términos generales la familia de las quinolonas son medicamentos muy seguros donde sus efectos de segundo orden más frecuentes no provocan daños severos sino leves. Los cambios a nivel digestivo y la artropatía no guardan semejanzas con las acciones químicas, pero, por otro lado la cristaluria, los desórdenes neurológicos y fototoxicidad, sí se encuentran muy entrelazadas con estas acciones. Los diferentes radicales del Carbono 5 (C5) de las quinolonas van a afectar generando alteraciones foto y genotóxicas. La Organización Mundial de la Salud, en el año 2000, mencionó que: “La fototoxicidad es provocada por un fenómeno oxígeno dependiente, ello desencadena que la quinolona se active con la luz ultravioleta, dejando radicales libres de carácter tóxicos como los grupos metilo, seguidos de un hidrogeno y grupo amino que incrementan la toxicidad”.

Los problemas para la salud humana van cada vez en aumento, y se vuelven evidentes cuando un compuesto de tipo carcinogénico como el nitrofurano pasa de la carne de pollo a los seres humanos. Sin embargo, hay diversas sustancias usadas comúnmente en las raciones de alimentos

de los animales, los cuales tienen y provocan serios daños secundarios. Un ejemplo son los restos de sustancias de la penicilina, los cuales generan reacciones alérgicas en algunos humanos; el uso continuo y dosis desmedidas de compuestos como: neomicina, gentamicina y estreptomicina, atañen efectos de segundo orden como sordera y problemas a nivel renal; la sustancia tetraciclina, agrava una afección renal. El trimetoprim no está permitido su uso en recién nacidos, mujeres gestantes o personas con alteraciones renales (MINAGRI, 2009).

En el caso del empleo de esta fluoroquinolona en equinos jóvenes, puede desencadenar artropatía y daños en zonas cartilaginosas (Vancutsem *et al.*, 1990; Langston *et al.*, 1996). Yoon, en el año 2004, investigó el efecto de la enrofloxacin sobre cultivos de células de tendones de caballos adultos y jóvenes, revelando que esta sustancia antimicrobiana inhibe la multiplicación celular realizando reordenamientos morfológicos, con un marcado decrecimiento total de monosacáridos y variación de la producción de proteoglicanos.

Harrison en el 2006, manifestó que luego de la aplicación de 2,4 mg/kg/24 horas de esta fluoroquinolona (enrofloxacin) por vía IM por un lapso de tiempo de 14 días, en guanacos, se denotó atrofia a nivel de la retina similar a la hallada en los felinos. Por otro lado, la ausencia de trabajos desarrollados en farmacocinética sobre los Camélidos Sudamericanos obliga al especialista a generar diversas pautas de ayuda a la salud fuera del estándar acordado, mediante estimación sobre lo observado en otras especies. La sub dosificación incrementa la posibilidad de la presencia de resistencia bacteriana, con evidente peligro de transmisión horizontal. La dosificación desmesurada aumentaría la capacidad tóxica del producto (convulsiones, alteraciones articulares, o pérdida de eficacia por el efecto “eagle”). Si mantenemos en cuenta que la enrofloxacin presenta un efecto antimicrobiano, es factible suponer la eficiencia potencial deluso de esta fluoroquinolona mediante la investigación de los marcadores de eficacia antibacteriana; sin embargo se debe tener en cuenta que siendo esta una especie usada para

consumo humano, tanto la sub o la sobre dosificación de enrofloxacin puede provocar que los metabolitos de ciprofloxacina ocasionen daño en la salud del consumidor.

En Tacna, se realizó un estudio para evaluar el nivel de restos de sulfamidas en muestras de tejido muscular y hepático de pollo, en donde el nivel de restos de sulfamidas fue superior al (LMR) permitidos por normas internacionales, por lo que existe posibilidad que dicha sustancia es de uso común por parte de los criadores quienes a su vez no respetan los tiempos de retiro específicos que deberían de ser para éste fármaco entre 05 a 07 días, pudiendo así desencadenar resistencia a los medicamentos (Barrios, 2012).

2.4 Método de ELISA (Enzyme Linked ImunoSorbent Assay)

Esta técnica de inmunoensayo tiene como método base el empleo de componentes proteínicos (antígenos o anticuerpos) señalados con una proteína-enzima, de tal forma que los complementos resultantes presenten labor inmune y enzimática. Al estar el antígeno o anticuerpo marcados con una proteína-enzima e insolubilizado a través de una base inmunoabsorbente, la reacción del antígeno-anticuerpo estará inmovilizada quedando fácilmente revelada, después de la adición de un sustrato de carácter particular, que al interactuar junto con la proteína enzimática desencadenará un colorido notorio y que puede ser cuantificado mediante el uso de un espectrofotómetro y un colorímetro (Cultek, 2006).

2.4.1 Anticuerpos Marcados

2.4.1.1 ELISA Directo

Este tipo de inmunoensayo ayuda a la detección de antígenos específicos en una determinada muestra. En el laboratorio clínico es muy poco utilizada la técnica de ELISA DIRECTO, siendo ELISA DE SANDWICH el más requerido dentro de mismo. En la prueba del ELISA DIRECTO se adiciona la muestra de forma directa al soporte permitiendo que el antígeno que se desea hallar, si es que se encuentra presente en la muestra, se adsorba a dicho soporte (pocillo). Se procede a

realizar un lavado para eliminar todo lo que no se haya unido al pocillo, luego se agrega el anticuerpo específico conjugado con la enzima, dicho anticuerpo-enzima se unirá al antígeno solo si éste se adsorbió al soporte (pocillo) en el paso previo. Seguidamente, después de realizar un segundo lavado, donde todo el conjugado que no se unió debió eliminarse, se añade el sustrato incoloro el cual es transformado en un producto detectable, solo si el conjugado aún estaba presente en el soporte. (Ríos *et al*, 2012).

2.4.1.2 ELISA Indirecto

La capacidad de ésta técnica es que permite la detección de anticuerpos. En este método, el soporte tiene unido el antígeno específico contra el que va dirigido el anticuerpo el cual se busca en la muestra. Se inicia agregando la muestra al pocillo, y si el anticuerpo está presente en la muestra problema, éste se unirá al antígeno que ya estaba adherido al pocillo (soporte). Seguidamente, procedemos a realizar un lavado con el fin de eliminar todo el resto que no logró unirse al antígeno y, después, se adiciona un anticuerpo anti inmunoglobulina humana conjugado con una proteína-enzima, el cual se acoplará al anticuerpo, solo si está presente en la muestra problema. Después de una segunda fase de lavado, en la que se elimina todo el conjugado que no pudo unirse, se agrega el sustrato incoloro siendo éste transformado a un producto detectable, y esta acción solo ocurrirá solo si el conjugado aún estaba presente en el pocillo. (Ríos *et al*, 2012).

2.4.1.3 ELISA Sandwich

A) ELISA Sandwich Directa

Para la detección de antígenos éste es el método más usado por los laboratorios clínicos. Dentro del pocillo se cuenta con un anticuerpo específico contra el antígeno que se está buscando en la muestra del paciente. Lo primero que se realiza es agregar la muestra problema a tratar y, si es que ésta muestra presenta antígeno, se unirá al anticuerpo que estaba ya adherido al soporte. Seguidamente, se procede a realizar un primer lavado con el fin de eliminar todo lo que no se unió al anticuerpo. Seguidamente, añadimos un segundo anticuerpo conjugado con una enzima, el cual

se unirá específicamente al antígeno de interés de la muestra, pero en un epítipo distinto al que se unió al primer anticuerpo que estuvo adherido desde un inicio al soporte. Posteriormente, en una segunda fase de lavado, donde se elimina todo el conjugado no unido, se añade el sustrato incoloro y éste se vuelve detectable cambiando de color solo si el conjugado todavía estaba presente en el pocillo. (Ríos *et al*, 2012).

B) ELISA Sandwich Indirecta

Este tipo de método o técnica se caracteriza por utilizar tres anticuerpos, dado que el segundo anticuerpo específico contra el antígeno no se encuentra conjugado directamente a la enzima, por lo que se utiliza un tercer anticuerpo anti inmunoglobulina humana, el cual se presenta conjugado con la enzima para que así pueda adherirse al segundo anticuerpo. Entonces, lo que en el ELISA de sándwich DIRECTO se obtiene mediante el uso de un segundo anticuerpo, en la técnica del ELISA de sándwich INDIRECTO se logra por medio del segundo y del tercer anticuerpo. Esta técnica de inmunoensayo presenta la ventaja de usar un mismo conjugado (anticuerpo anti inmunoglobulina humana conjugado con una enzima) para cada una de las fases de detección donde se aplique la metodología, debido a que el anticuerpo con especificidad por el antígeno buscado en la muestra problema no es el que está unido a la proteína-enzima. Por ende, se evita el costoso proceso de conjugar a la enzima con cada anticuerpo específico, según el antígeno que se esté buscando en la prueba a realizar.

2.4.2 Anticuerpos No Marcados

2.4.2.1 ELISA de tipo Competitivo

En esta técnica, el anticuerpo deberá disputar con el conjugado por un número mínimo de lugares de adhesión del antígeno. Una característica singular en esta prueba es la falta de colorido en una muestra positiva, esto a causa de que el sustrato no hallará a la proteína-enzima, dado que el anticuerpo presente en la muestra a trabajar logró desplazar al conjugado (Cultek, 2006).

2.4.3 Método de análisis Test de ELISA Enrofloxacin

La enrofloxacin, perteneciente a la familia de las fluoroquinolonas, tiene como característica la capacidad de inhibir la actividad del ADN girasa bacteriana. Esta fluoroquinolona es generalmente utilizada en infecciones provocadas por *E. coli*, *Salmonella*, *Pasteurella*, *Mycoplasma* y *Haemophilus*. Se ha establecido, según norma internacional, en 100 µg/kg (ppb) el LMR (límite Máximo Residual) para la suma de enrofloxacin y su metabolito activo ciprofloxacina en tejido muscular y grasa al igual que para la leche. El kit Max Signal® Enrofloxacin ELISA, permite detectar a esta fluoroquinolona y su principal metabolito ciprofloxacina a un nivel tan bajo como 0.5 ppb en diferentes tipos de muestras. Este kit presenta un método de extracción único, preciso, rápido, rentable y fácil de usar, siendo sus características (BIOO SCIENTIFIC, 2013):

- La extracción de enrofloxacin puede ser terminada en un tiempo de entre 10–30 minutos y con una alta tasa de recuperación de hasta 95% y un mínimo de 75%, en diferentes muestras como: pienso, miel, carne, leche, tejido, huevos embrionarios, suero y orina.
- Un inmunoensayo con carácter de rapidez (menos de 2 horas con respecto al número de muestras).
- Alta reproducibilidad

2.4.3.1 Descripción general del procedimiento

El método es un inmunoensayo colorimétrico competitivo. El fármaco de interés (enrofloxacin) ha sido recubierto en los pocillos (soporte) de la placa. Durante el proceso de análisis, el anticuerpo primario específico se adiciona junto con la muestra. En cuanto el fármaco que se hallaría en la muestra problema esté presente, competirá por el anticuerpo, evitando que el anticuerpo se una al fármaco unido al pozo. El anticuerpo secundario, marcado con una enzima peroxidasa, se dirige al anticuerpo primario que forma un complejo con la enrofloxacin

recubierta en los pocillos. Luego de añadir el sustrato, la intensidad del color resultante, tiene una relación inversa con la concentración objetivo en la muestra (BIOO SCIENTIFIC, 2013).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Tiempo y lugar

El estudio se promovió en el Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental. La crianza de los cuyes se realizó en el fundo San Marcos del IVITA – Maranganí (Canchis, Cusco) perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM, distrito de Maranganí, provincia de Canchis, Región Cusco durante el mes de junio del 2018 y duro 10 días. La toma de muestra se realizó en la sala de necropsias del IVITA – Maranganí. Las muestras fueron trasladadas en congelación para ser procesadas al “Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos”, ubicada en Av. Circunvalación S/N Cdra. 28, del distrito de San Borja, provincia de Lima, Región Lima.

3.2 Tamaño de muestra

Se utilizaron 51 cuyes (26 machos y 25 hembras) con pesos comprendidos entre 650 - 800g.

Los animales fueron distribuidos en 3 corrales de 13 animales cada uno (2 de machos y 1 de hembra) y 1 corral de 12 animales (hembras).

3.3 Instalaciones, equipos y materiales

El trabajo de investigación se ejecutó en la unidad de crianza de cuyes del fundo de San Marcos del IVITA - Maranganí. Se seleccionaron 4 pozas (corrales) con base de concreto y paredes enmalladas con columnas de madera, cuyas dimensiones son de 90cm de ancho, 1.50mt de largo y 50cm de altura. Las áreas de crianza fueron limpiadas y desinfectadas con amonio cuaternario y cal; conteniendo una cama nueva a base de paja seca.

3.3.1 Equipos empleados

- ❖ Lector Biotek EL X 800
- ❖ Centrifugadora
- ❖ Espectrofotómetro
- ❖ Micro pipetas

3.3.2 Material biológico

- ❖ Muestras de músculos de carne de cuy: Recto femoral, *Longissimus dorssi* y Diafragma.

3.3.3 Otros materiales

- ❖ Bolsas de polietileno
- ❖ Guantes descartables
- ❖ Cajas térmicas
- ❖ Tijeras y pinzas

- ❖ Etiquetas autoadhesivas
- ❖ Tubos de ensayo descartables
- ❖ Balanza electrónica
- ❖ Termómetro
- ❖ Computadora con SOFTWARE IPSS instalado
- ❖ Kit de ELISA - Enrofloxacin

Especificaciones:

PLACA: 1 x 96 pocillos (8 pocillos extraíbles x 12 tiras)

MEDICIÓN: lector de placas de microtitulación (450 nm)

PRUEBAS POR KIT: El kit tiene capacidad para 96 determinaciones o pruebas de 42 muestras por duplicado.

TIEMPO DE INCUBACIÓN: 75 minutos.

VIDA ÚTIL Y ALMACENAMIENTO: Hasta 12 meses, cuando se almacena correctamente.

3.4 Recursos humanos

El requerimiento de personal técnico constó de: un técnico con experiencia en la crianza de cuyes y un técnico especialista en uso y lectura de SOFTWARE.

3.5 Diseño experimental

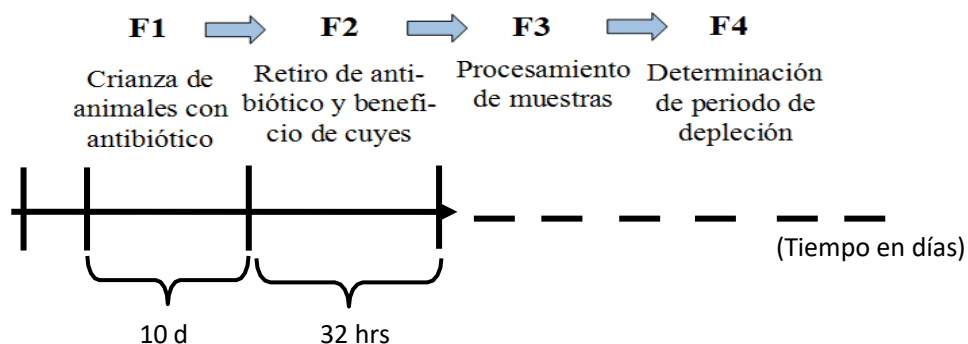


Figura 3. Esquema de desarrollo del estudio experimental

3.5.1 FASE 1: CRIANZA DE LOS ANIMALES

Para la selección de animales, se eligieron 51 cuyes con un peso promedio entre 650 - 800g. Los animales fueron distribuidos en 4 pozas separándose por sexo (2 pozas para hembras y de igual forma con los machos).

Para el programa de alimentación, durante el experimento, los animales recibieron una dieta *ad libitum* la cual estuvo compuesta por forraje y concentrado, la enrofloxacin como promotor de crecimiento fue administrado vía oral a los animales a una dosis de 0.05 ml (1 gota c/u) cada 24 hrs por 10 días. Los animales fueron alimentados con forraje alfalfa (*Medicago sativa*), la chala de maíz (*Zea mays*) y Ray grass (*Lolium perenne*). En ningún momento se les disminuyó el alimento.

3.5.2 FASE 2: RETIRO DE ENROFLOXACINA y BENEFICIO DE CUYES

En la figura 4 se aprecia que al día 10 de la crianza se administra por última vez el fármaco para todos los animales e inmediatamente después de la última administración se faenaron a los animales.

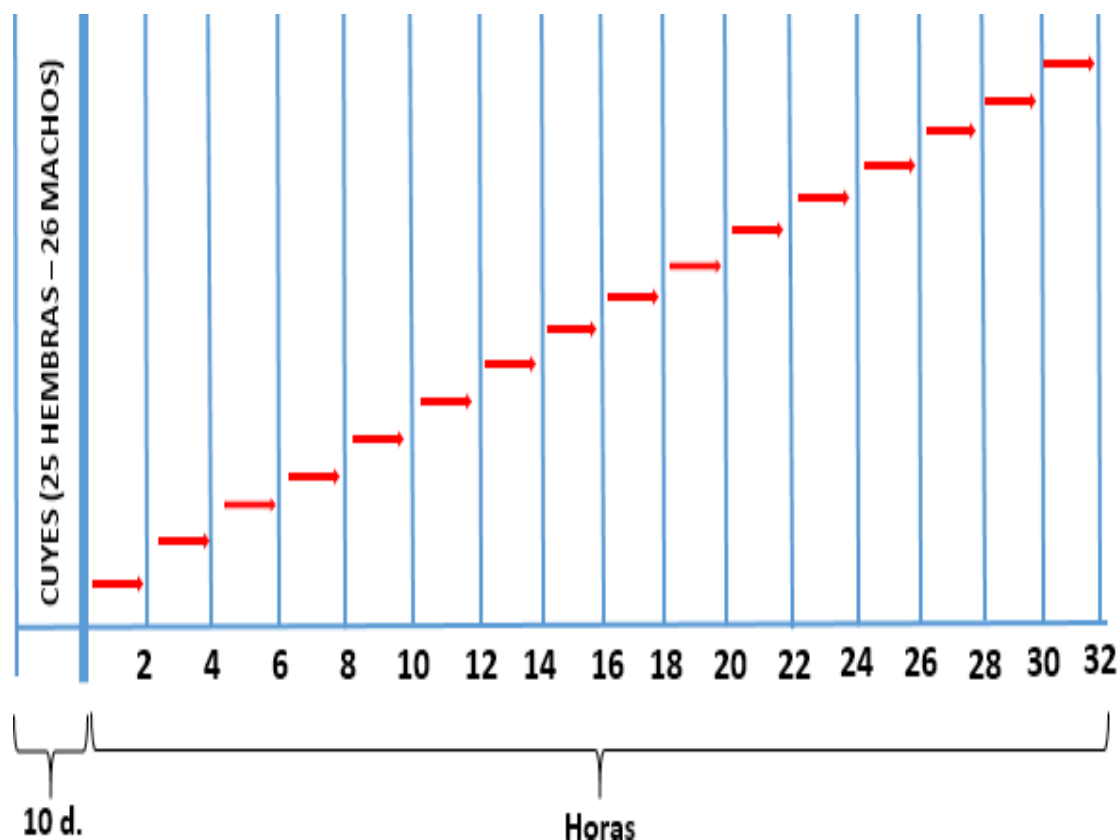


FIGURA 4. Secuencia de beneficio de cuyes cada 2 horas. Tres cuyes fueron beneficiados cada dos horas, a partir de las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 y 22 horas post retiro del antibiótico. Se tomó muestras del muslo, músculo diafragma y músculo Longissimus dorsi.

3.5.3 FASE 3: PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE MÚSCULO

3.5.3.1 Preparación de reactivos

La preparación de los reactivos se realizó previamente tanto para el protocolo de preparación de muestras, como para el protocolo de análisis de ELISA, dichas preparaciones son detalladas en los procedimientos específicos del manual de referencia del mismo Enrofloxacin Kit (Max Signal®) ELISA.

A. Preparación de Tampón de Extracción de Muestras 1X:

Mezcle 1 volumen de 10X tampón de extracción de muestras con 9 volúmenes de agua destilada.

B. Preparación de un 35% de metanol / Tampón de Extracción de Muestra

Mezcle 6,5 volúmenes de tampón de extracción de muestras 1X con 3,5 volúmenes de metanol al 100%.

3.5.3.2 Preparación de las muestras

Las muestras (*recto femoral*, *músculo diafragma* y *músculo Longissimus dorsi*) fueron almacenadas en bolsas independientes de primer uso debidamente rotuladas e inmediatamente congeladas a -20°C después de cada beneficio. Posteriormente todas las muestras fueron transportadas vía aérea desde Cusco a Lima en un recipiente térmico conteniendo geles refrigerantes; ya en Lima en el “Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM”, fueron congeladas a -20°C.

Antes de empezar el análisis usando el Kit ELISA se descongelaron las muestras a temperatura ambiente (20-25°C). Una vez acondicionadas se procedió a eliminar la grasa excesiva, luego se pesó un gramo de muestra procediéndose a triturar y homogenizar en un mortero. Homogeneizadas las muestras y dentro de un mezclador adecuado (tubo de ensayo) se agregó 4 ml de metanol al 35% / Tampón de Extracción de Muestra y 50 ul de Tampón de Extracción de Carne I, seguidamente se unificó las muestras con los reactivos usando el Vórtex durante 10 minutos a la velocidad máxima. Posterior al Vórtex, se centrifugó durante 10 minutos a 4.000 rpm a temperatura ambiente (20 – 25°C / 68 – 77°F, transfiriéndose 0.5 ml del sobrenadante a otro tubo, donde agregamos 25 ul de buffer straction de carne II y 1.5 ml de 35% de metanol / Tampón de Extracción de Muestra, agitándose luego durante 30 segundos. Después de este tiempo, se tomó 50 ul del sobrenadante para el ensayo de ELISA.

3.5.3.3 Protocolo ELISA

El kit (Max Signal®) ELISA específico para Enrofloxacin, tiene capacidad para noventa y seis determinaciones, asignados dos pocillos para el control de calidad y los demás pocillos para las muestras. Luego de obtener las muestras, las cuales fueron procesadas previamente, se

procedió, según las instrucciones del manual del kit (Max Signal®) ELISA Enrofloxacin con el siguiente protocolo:

- ❖ Se añadió 50 µl de cada uno de los estándares de enrofloxacin en duplicado en diferentes pocillos.
- ❖ Se adicionó “50 µl” de muestra por duplicado en cada pocillos
- ❖ Se incorporó 50 µl del anticuerpo # 1 (kit) y mezclar bien, agitando manualmente la placa de forma suave durante 1 minuto.
- ❖ La placa se incubó durante 30 minutos a T^a ambiente “20 a 25 °C”.
- ❖ Se decantó y se aspiró la solución de los pocillos y se desechó el líquido. Se lavó 3 veces los pocillos, con 250 µl 1x solución de lavado (kit). Luego de la fase final del lavado, se invierte la placa y se deja secar sobre toallas de papel
- ❖ Se añadió 150 µl de 1 x anticuerpo # 2 a cada soporte e incubó por “30 minutos a T^a ambiente”.
- ❖ Se decantó y aspiró la solución de los pocillos y desechó el líquido. Se lavó la placa “3 veces con 250 ml de solución de lavado 1x.” y después de la fase final de lavado, suavemente se colocó la placa de forma invertida sobre papel secante.
- ❖ Se agregó 100 µl de sustrato TMB (Tetrametil–Bencidina) kit, luego se añadió el sustrato, mezclamos la solución agitando levemente la placa en forma manual por 1 minuto mientras se incubaba.
- ❖ Después se incubó por 15 min. a T^a ambiente (20 – 25°C / 68 – 77°F) se añadió 100 µl del stop buffer (kit) para con el fin de parar la acción enzimática.
- ❖ Fue leída inmediatamente después de la adición de tampón de parada en un lector de placas (ESPECTROFOTÓMETRO) con 450 nm. Longitud de onda. (Lector: BIOTEK X800)

3.5.4 FASE 4: ANÁLISIS DE INFORMACIÓN

En el cuadro 3 se encuentran los datos obtenidos del ESPECTROFOTÓMETRO (densidades ópticas), los cuales fueron ordenados en una hoja de cálculo de Excel, para luego promediarlos y determinar la concentración de metabolito de enrofloxacin en el estudio.

Cuadro 3. Densidades ópticas dadas por el ESPECTROFOTÓMETRO

DENSIDADES ÓPTICAS							
1	2	3	4	5	6	7	8
1.593	1.623	1.644	2.142	1.433	1.378	2.173	2.325
9	10	11	12	13	14	15	16
1.314	1.286	1.387	0.558	0.477	0.466	0.546	0.606
17	18	19	20	21	22	23	24
0.369	0.341	0.342	0.363	0.367	0.385	0.438	0.510
25	26	27	28	29	30	31	32
0.495	0.357	0.374	0.462	0.464	0.421	0.469	0.714
33	34	35	36	37	38	39	40
0.480	0.701	1.624	0.366	0.975	0.951	1.177	1.322
41	42	43	44	45	46	47	48
1.479	1.399	1.469	1.466	1.424	1.444	1.447	1.432
49	50	51	A	B	C	D	
1.585	1.464	1.411	3.033	2.967	2.668	2.052	
CONTROL NEGATIVO					0.1	0.25	1

Seguidamente, en el cuadro 4 se observa los promedios de las densidades ópticas ordenadas en una nueva hoja de cálculo de Excel agrupadas cada tres animales y según las horas de beneficio correspondiente a cada promedio.

Cuadro 4. Promedio de Densidades Ópticas por cada dos horas de beneficio

ANIMALES	1-3	4-6	7-9	10-12	13-15	16-18	19-21	22-24	25-27
TIEMPO (Hrs)	0	2	4	6	8	10	12	14	16
PROMEDIO (D.O)	1.620	1.651	1.937	1.077	0.496	0.439	0.357	0.444	0.409
ANIMALES	28-30	31-33	34-36	37-39	40-42	43-45	46-48	49-51	
TIEMPO (Hrs)	18	20	22	24	26	28	30	32	
PROMEDIO (D.O)	0.449	0.554	0.897	1.034	1.400	1.453	1.441	1.487	

Finalmente, en el cuadro 5 se observa los niveles de concentración de metabolito activo de enrofloxacin de acuerdo a cada promedio de (D.O) y según tiempo de beneficio, basados en los controles hallados en la lectura del análisis del test de ELISA, estos datos son finalmente llevados a una nueva hoja de cálculo de Excel para tener las variaciones de los niveles de concentración de ciprofloxacina cada dos horas de acuerdo como fue el beneficio de los animales.

Cuadro 5. Concentraciones de metabolito de enrofloxacin por cada dos horas de beneficio de cuyes.

TIEMPO (Hrs)	0	2	4	6	8	10	12	14	16
PROMEDIO (D.O)	1.620	1.651	1.937	1.077	0.496	0.439	0.357	0.444	0.409
[] ug/kg	61.3	75.4	52.4	371.4	1011.2	1211.2	1425.0	1156.1	1267.6
TIEMPO (Hrs)	18	20	22	24	26	28	30	32	
PROMEDIO (D.O)	0.449	0.554	0.897	1.034	1.400	1.453	1.441	1.487	
[] ug/kg	1134.9	904.4	686.5	280.7	95.6	80.8	83.5	74.8	

IV. RESULTADOS

En la Figura 5a se observa la curva de calibración de los estándares que se obtuvo siguiendo las indicaciones del fabricante. Esta curva fue necesaria para determinar la concentración de metabolito de ENR en este estudio, ya que los valores de absorbancia relativa (%) de las muestras evaluadas se extrapolaron con los de esta curva, usando para ello la ecuación que se muestra en esta misma figura.

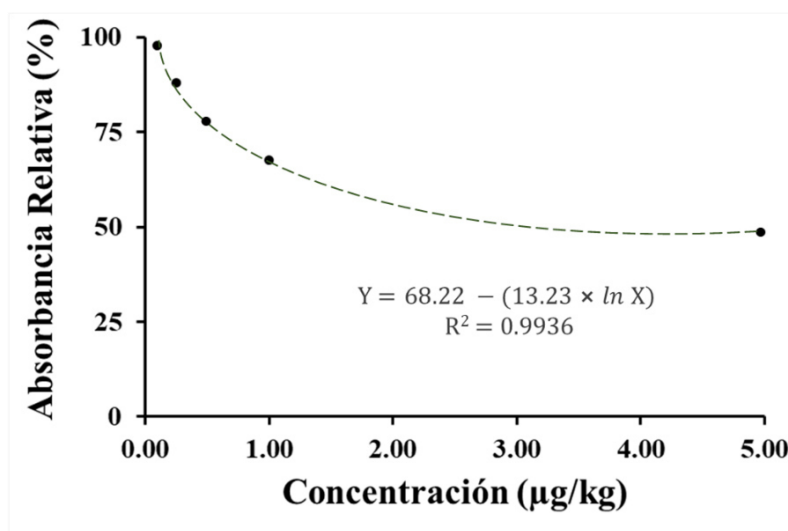


Figura 5a. Curva de calibración de los estándares (absorbancia relativa vs concentración) necesaria para la cuantificación de enrofloxacin en la carne de cuy (*Cavia porcellus*). Se observa la ecuación de la curva, donde “Y” es la absorbancia relativa (%), “X” es la concentración de enrofloxacin (µg/kg) y R^2 es el coeficiente de determinación.

De acuerdo con la figura 5b, se elaboró una curva del metabolismo del antibiótico y el análisis de regresión para estimar el período de depleción.

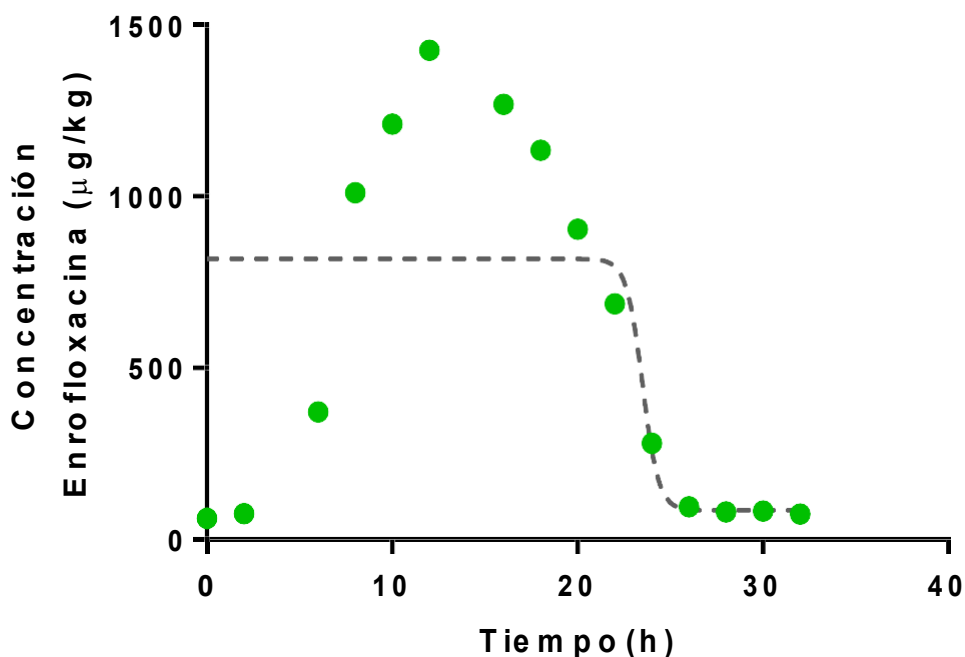


Figura 5b. Gráfico de variación de concentraciones de metabolito de enrofloxacin en horas.

En la Figura 6a se puede observar los valores de las concentraciones de ENR en las 51 muestras analizadas, en función de su absorbancia relativa y en cada una de las horas establecidas para su determinación (desde las 0 h hasta las 32 h). Las concentraciones de ENR incrementaron durante las primeras doce horas, presentando valores promedio de 61.3 ± 3.9 µg/kg y 1211.2 ± 388.4 µg/kg, a las cero y 10 horas, respectivamente. A las 12 horas posterior al retiro del antibiótico, se alcanzó un pico de concentración máxima de 1425 ± 53.4 µg/kg. Posteriormente, los valores del metabolito iniciaron su descenso, por ejemplo, a las 14, 18 y 20 horas las concentraciones fueron de 1156.1 ± 178.1 , 1134.9 ± 69.8 , 904.4 ± 276.5 µg/kg, respectivamente.

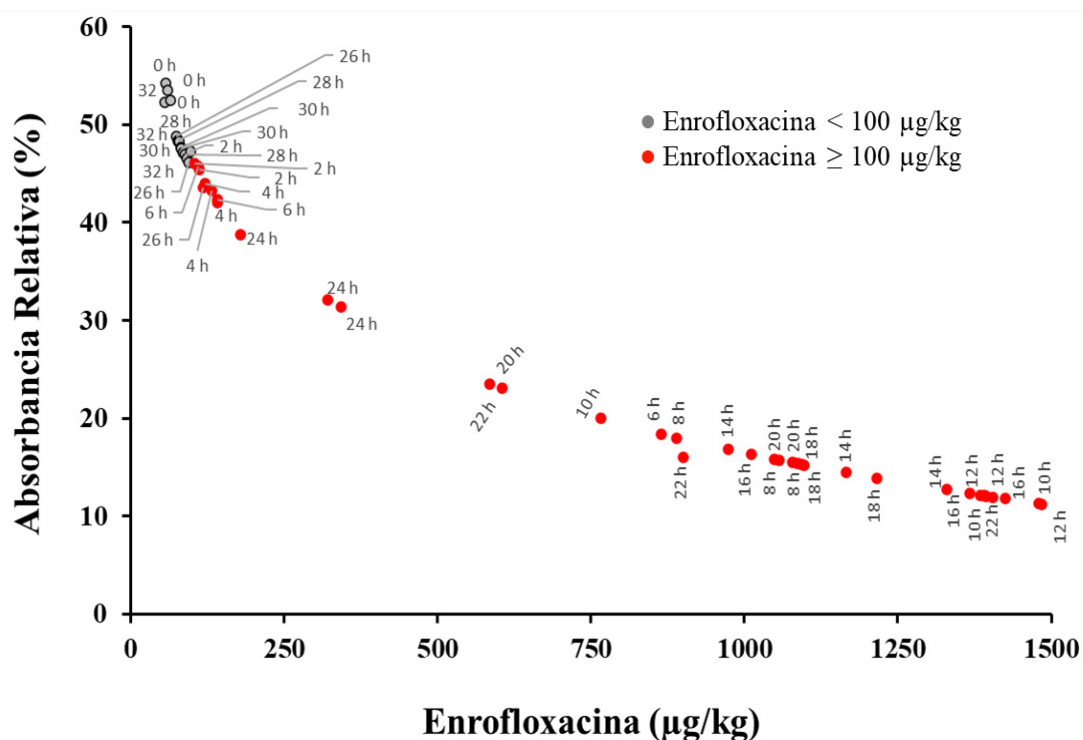


Figura 6a. Concentración de enrofloxacin (µg/kg) en función de su absorbancia relativa (%) en muestras de músculo diafragma de cuyes (*Cavia porcellus*) a diferentes horas (h) posteriores al retiro de este antibiótico administrado experimentalmente vía oral durante 10 días consecutivos. Los puntos rojos y grises representan las concentraciones de enrofloxacin por debajo o encima del límite de 100 µg/kg.

Los resultados evidencian que durante las primeras 6 horas las concentraciones de metabolito de enrofloxacin se encuentran en valores comprendidos entre 61.3 a 371.4 ug/kg. En las posteriores cuatro horas, las concentraciones del metabolito del antibiótico aumentan a valores comprendidos entre 1011.2 y 1211.2 ug/kg, pero a las 12 horas ya se aprecia el pico de concentración máxima del metabolito de enrofloxacin, siendo este de 1425.0 ug/kg.

Los datos obtenidos muestran que este pico máximo de concentración no se mantiene y disminuye en las próximas dos horas hasta un valor de 1156.1 ug/kg, sin embargo a las siguientes dos horas existe un segundo pico de concentración cuyo valor es de 1267.6 ug/kg (16hrs post retiro de antibiótico), de aquí en adelante los valores del metabolito empiezan a disminuir, para las siguientes seis horas las concentraciones del metabolito enrofloxacin comprenden 1134.9,

904.4 y 686.5 ug/kg. La gráfica muestra que en las siguientes cuatro horas las concentraciones del metabolito del antibiótico de enrofloxacin se encuentran variados entre 280.7 y 95.6 ug/kg, indicando esta última concentración que se encuentra por debajo del LMR (100 ug/kg). Las siguientes concentraciones de metabolito, según la gráfica, señalan 80.8, 83.5 y 74.8 ug/kg, mostrándose estos valores por debajo del LMR señalado para carne de cuy.

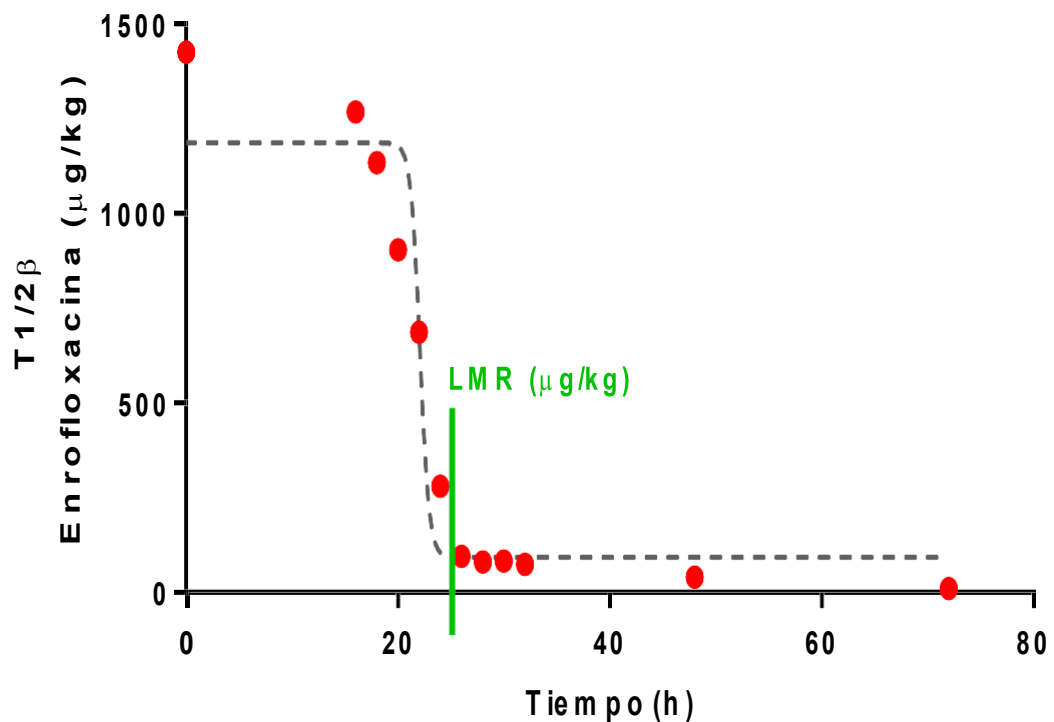


Figura 6b. Gráfico de pico máximo de concentración de metabolito de enrofloxacin y último valor de metabolito menor al LMR.

Finalmente, en la figura 6b los resultados indican la presencia de metabolitos activos de enrofloxacin por debajo del LMR (100 ug/kg – para carne) en concentraciones desde 95.6 a 74.8 ug/kg, comprendidos entre las 26 y 32 horas post retiro del antibiótico respectivamente.

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo evidenció la presencia del metabolito enrofloxacin en el 100% de los animales estudiados. Los niveles de concentración variaron en un intervalo de 61.3 ug/kg a 1425.0 ug/kg, siendo estos valores muy distintos a los hallados por Villalobos (2018), cuyo estudio en aves obtuvo niveles de metabolito de enrofloxacin en un intervalo de 0.00 µg/kg a 41.20 µg/kg. Los restos de metabolito señalados en el trabajo de Villalobos se encuentran dentro del LMR por la norma sanitaria de fármacos veterinarios en expendios de consumo humano, siendo este valor para carne de 100 µg/kg, según la “Norma Técnica de Salud N° 120–MINSA/DIGESA–V01”, mientras que en el presente trabajo se ha evidenciado valores elevados mayores a 371.4 ug/kg por encima del LMR.

El presente estudio determinó que el nivel más alto de metabolito de enrofloxacin fue de 1.425 ng/mg (1425.0 ug/kg), analizado mediante el método de ELISA, siendo este valor mayor al LMR establecido para carne (Figura 5). Ramatla *et al* (2017), utilizaron la misma técnica de inmunoensayo para la determinación de residuos de metabolitos de ciprofloxacina, estreptomicina, tetraciclina y sulfanilamida, sobre 150 muestras de tejido muscular crudo (50 de pollo, 50 de cerdo y 50 de res) adquiridos en diferentes puntos de venta (carnicerías y

supermercados) en la región norte de la ciudad de Mafhikeng, provincia del Noreste de Sudáfrica, resultando que el 56, 34, 18, y 25,3% de las muestras dieron positivo a enrofloxacin, estreptomicina, sulfanilamida y tetraciclina respectivamente. Los niveles de enrofloxacin halladas oscilaron entre 42.6 y 355.6 $\mu\text{g} / \text{kg}$ (músculo de cerdo e hígado) con una concentración media general de 151.03 $\mu\text{g} / \text{kg}$. La concentración media de 151.03 $\mu\text{g} / \text{kg}$ encontrada fue superior a los límites máximos de residuos (LMR) de 100 $\mu\text{g} / \text{kg}$, mientras que en el presente estudio la concentración media fue de 586.6 $\mu\text{g} / \text{kg}$, confirmando mediante este trabajo el potencial del método de ELISA para el monitoreo de residuos de antimicrobianos seleccionados en muestras de carne. El método de inmunoensayo proporcionó una excelente sensibilidad y selectividad para la especificación de restos de antibióticos en muestras de carne.

Las sustancias pertenecientes a la familia de las fluoroquinolonas tienen como particularidad buena filtración cuando el uso es por vía oral, teniendo una biodisponibilidad superior al 50% llegando en algunos casos a alcanzar el 100%, siendo estos niveles en suero similares a la administración por vía IV (Intravenosa). La Norfloxacin se asimila al 50 %, pero ciprofloxacin llega al 70 %. En lagomorfos la biodisponibilidad es del 77 % para la administración sub cutánea y 61 % para la administración oral, en caninos entre 73% a 100% vía oral (según diferentes autores), en aves un 60% vía oral y en equinos entre 60% y 61% vía oral (Otero, 2000). Cué y compañía, en el 2005, señaló lo siguiente: “Las máximas concentraciones plasmáticas se logran una a dos horas post administración”; sin embargo, en el presente estudio se aprecia que las máximas concentraciones se dan entre las 12 y 16 horas post administración del antibiótico, teniendo 1.425 ng / mg (1425.0 $\mu\text{g} / \text{kg}$) como valor máximo de concentración de metabolito a las 12 horas post administración (Figura 5).

Crivineanu (2009), realizó un estudio de depleción de enrofloxacin en carne de cerdo, administrándoles el antibiótico enrofloxacin al 10% por vía oral a los animales durante 5 días en la dosis recomendada por el fabricante, encontrando como resultado que los niveles de

agotamiento (depleción) del metabolito enrofloxacin en las muestras fueron 0.386, 0.176, 0.028 mg/kg al 1er, 3er y 4to día respectivamente post interrupción del tratamiento, donde al 4to día (120hrs post interrupción) la concentración de enrofloxacin se encontró por debajo del LMR en carne (músculo) de cerdo el cual según norma internacional es de 100 ug/kg (0.1 mg/kg); mientras que en el presente estudio se obtuvo a las 26 hrs (post interrupción del tratamiento) siendo el nivel de concentración de 95.6 ug/kg (0.0956 mg/kg) de enrofloxacin, el cual está por debajo del LMR 100 ug/kg (0.1 mg/kg) según apunta el MINSA en su Norma TÉCNICA DE SALUD para carne de cuy.

El Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad (2008), por medio de un organismo español de control de medicamentos y productos sanitarios, elaboró una síntesis de particularidades de un medicamento veterinario GANADEXIL ENROFLOXACINA SOLUCIÓN ORAL, donde menciona que tras la administración oral en conejos, el fármaco se absorbió lentamente, alcanzándose la concentración máxima a las 2,3 horas y que los niveles de concentración de metabolito ciprofloxacina oscilaron entorno a los 2 µg/ml y los 0,5 µg/ml, eliminándose de la vía plasmática a las 2 horas; mientras que el presente trabajo determinó que el intervalo de la concentración máxima de metabolito de ciprofloxacina y la mínima fue de 1425.0 ug/kg – 74.8 ug/kg respectivamente, donde el valor mínimo de ciprofloxacina en este estudio en canales de cuyes fue hallado a las 32 hrs post interrupción del medicamento.

El período de depleción o agotamiento de metabolito de enrofloxacin, está comprendido entre el día del corte de la administración del fármaco hasta el día que represente el último valor de cantidad de residuos del antibiótico de enrofloxacin, siendo ese valor menor al límite máximo residual (LMR) indicado por la norma sanitaria en alimentos de consumo humano, que señala singularmente para carne el valor de 100 µg/kg, (OIE). El último valor menor al límite máximo permisible, hallado en este estudio luego de la última administración del antibiótico, fue de 74.8 ug/kg, determinado a las 32 horas post-retiro de antibiótico.

VI. CONCLUSIONES

- El máximo nivel de concentración de la enrofloxacin se encontró a las 12 horas post retiro de este fármaco en cuyes.
- Se sugiere un tiempo de retiro de la enrofloxacin de 2 días para la aptitud de la carne de cuy.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar más estudios utilizando diferentes dosis de enrofloxacin y en muestras como hígado, riñón e intestinos. Esto evidenciará los constantes usos indiscriminados del antibiótico y donde se hallan las mayores concentraciones de metabolito.
- Realizar estudios de evaluación social con la finalidad de establecer en qué zonas alto andinas se sigue aplicando enrofloxacin, ya que se trata de un fármaco de uso habitual.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. [BIOO] Bioo Scientific. 2013. Max Signal Enrofloxacin Elisa Test Kit Manual. Catalog#:1017-01. [Internet], [09 de Noviembre 2018]. Disponible en: <http://www.generon.it/dati/allegati/originali/maxsignal-enrofloxacin-elisa-test-kit-bos1017-01-um-en-20160318.pdf>
2. [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2011. Antibiotics in farm animal production. Public health and animal welfare. [Internet], [08 Junio 2017]. Disponible en: <https://www.ciwf.org.uk/media/3758863/Antibiotics-in-Animal-Farming-Public-Health-and-Animal-Welfare.pdf>
3. [MINAGRI] Ministerio de Agricultura. 2009. Residuos químicos en carnes y su relación con la normatividad. Lima. [Internet], [09 Junio 2017]. Disponible en: <http://www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/direccionesyoficinas/dgca/residuos-quimicos-en-carnes.pdf>
4. [MINAGRI] Ministerio de Agricultura. 2010. Buenas prácticas pecuarias en la crianza comercial de cuyes. Manual para el productor. [Internet], [09 Junio 2017]. Disponible en:

<http://www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/direccionesyoficinas/dgca/crianza/cuyes.pdf>

5. [MINSA] Ministerio de Salud, 2016. Norma sanitaria que establece los Límites Máximos de Residuos (LMR) de medicamentos veterinarios en alimentos de consumo humano. MINSA/DIGESA-V.01. Perú. [Internet], [30 Noviembre 2019]. Disponible en: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2014/11/RM-372-2016-MINSA-con-NTS-120-MINSA-DIGESA-v01-LMR-Medicamentos.pdf>
6. [OMS] Organización Mundial de la Salud. 2018. Resistencia a los antibióticos. [Internet], [09 Mayo 2019]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>
7. [UE] Unión Europea, 2009. Fijación de los límites de residuos de las sustancias farmacológicamente activas en los alimentos de origen animal. Reglamentos. Bruselas. [Internet], [09 Mayo 2019]. Disponible en: <https://www.boe.es/doue/2010/015/L00001-00072.pdf>
8. Adams, 2001. Farmacología y terapéutica veterinaria. 2 ed. España: Acribia. p 851-901.
9. Aguilar G, Bustamante J, Bazán V, Falcón N. 2011. Diagnóstico situacional de la crianza de cuyes en una zona de Cajamarca. Rev. Investig. vet Perú 22(1): 09-14.
10. Barrios, L. 2012. Estudio de los niveles de residuos de antibióticos en músculo e hígado de pollos beneficiados en la ciudad de Tacna, Perú. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.
11. Cajas G AJ. 2008. Efecto de la utilización de chocho (*Lupinus mutabilis* sweet) como antiparasitario gastrointestinal en cuyes bajo diferentes tiempos de maceración y cocción. Tesis de Ingeniero Zootecnista. Riobamba: Esc. Sup. Politécnica de Chimborazo. 114 p.

12. Chauca L. 1997. Producción de Cuyes. FAO Revista Producción y Sanidad. [Internet], [03 de octubre 2018]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/w6562s/w6562s01.htm>
13. Crivineanu M, Nicorescu V, Goran G, Papuc C. 2009. The depletion of enrofloxacin residues in pork meat. Bulletin of university of agricultural sciences and veterinary medicine cluj- napoca. Veterinary Medicine. Rumanía. [Internet], [20 de Octubre 2019]. Disponible en: <http://journals.usamvcluj.ro/index.php/veterinary/article/view/3975/3646>
14. Codex Alimentarius. 2016. Lima: Ministerio de Agricultura. [Internet], [01 Junio 2017]. Disponible en: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/gsfa/es/>
15. Colín A L, Morales B E, Avila G E. 1994. Evaluación de promotores del crecimiento para pollos de engorda. Vet. Méx., 25(2): 141.
16. Cultek, 2006. Fundamentos y tipos de Elisás. Studylib. España. [Internet], [13 noviembre 2018]. Disponible en: <https://studylib.es/doc/4945796/fundamentos-y-tipos-de-elisas>.
17. Diario Oficial de la Unión Europea. 2009. Reglamento relativo a las sustancias farmacológicamente activas y su clasificación por lo que se refiere a los límites máximos de residuos en los productos alimenticios de origen animal. [Internet], [18 de marzo 2018]. Disponible en: <https://www.boe.es/doue/2010/015/L00001-00072.pdf>
18. FAO. 2005. Políticas de Seguridad Alimentaria en los Países de la Comunidad Andina.
19. FAO-OMS. 2006. Updating the Principles and Method of Risk Assessment: MRLs for Pesticides and Veterinary Drugs.

20. Fodey T., Murilla G., Cannavan A., Elliott C. 2007. Characterisation of antibodies to chloramphenicol, produced in different species by enzyme-linked immunosorbent assay and biosensor technologies. *Analytica Chimica Acta* 592: 51-57.
21. Gaudin, V., Cadieu, N., & Maris, P. 2003. Inter-laboratory studies for the evaluation of ELISA kits for the detection of chloramphenicol residues in milk and muscle. *Food and Agricultural Immunology*, 15, 143–157.
22. Gomez, 2014. Situación actual de residuos de fármacos veterinarios en alimentos de origen animal en el Perú. Tesina para optar título de médico veterinario. FMV - UNMSM. Lima.105 p.
23. Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria. 2011. Investigación en cuyes. [Internet], [05 de julio 2018]. Disponible en: <http://www.inia.gob.pe/cuyes/resumen.htm>
24. Kilinc, B.; Meyer, C. y Hilge, V. 2007. Evaluation of the EEC four–plate test and Premi test for screening antibiotic residues in trout (*Salmo trutta*). *International Journal of Food Science & Technology*, 42(5):625–28.
25. Klecak G, Urbach F, Urwyler H 1997. Fluoroquinolone antibacterials enhance UVA-induced skin tumors. *J. Photochem Photobiol B: Biology* 37:174-181.
26. Lozano, A.; María, C.; Arias, M. y Diana C. 2008. Residuos de fármacos en alimentos de origen animal: Panorama actual en Colombia.
27. Martínez C MA. 2011. Manteniendo la salud intestinal en la avicultura. [Internet], [14 de octubre 2019]. Disponible en: 70 <http://www.elsitioavicola.com/articles/1980/manteniendo-la-salud-intestinal-en-laavicultura>
28. Martínez M, McDermott P, Walker R. 2006. Pharmacology of the fluoroquinolones: a perspective for the use in domestic animals. *The Vet. Journal* 172(1):10-28. [Internet], [13 de octubre 2018]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023305001814?via%3Dihub>

29. Matssura S, Morales C, Calle E, Ara G. 2010. Susceptibilidad a antibacterianos in vitro de Salmonella entérica aislada de cuyes de crianza familiar – comercial en la provincia de Carhuaz, Áncash. Rev. Investig. Vet. Perú. 21:93-99p.
30. Medina M, Gonzalez D, Ramírez A. 2008. Detección de residuos antimicrobianos en tejidos comestibles y tetraciclina en hueso de cerdo. Rev Salud Anim. [on line]. 2008, vol.30, n.2, pp. 110 – 115. ISSN 0253 – 570X.
31. Ministerio de Agricultura y riego [MINAG]. 2008. Cuy. [Internet], [03 de Agosto 2018]. Disponible en: <http://www.minag.gob.pe/situacion-de-las-actividades-decrianza-y-producci/cuyes.html>
32. Ministerio de Agricultura de Chile, 2013. Estudios de depleción de productos farmacológicos. Servicio Agrícola y Ganadero del Gobierno de Chile. [Internet], [20 Junio 2017]. Disponible en: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/estudios_deplecion_residuos_capacitacion_2013.pdf
33. Muhammad K *et. al.* 2015. Assessment of different cooking techniques on residual quantification of ciprofloxacin and enrofloxacin antibiotics in chicken. Journal of Food Processing and Preservation ISSN 1745-4549. Pakistán. [Internet], [12 Junio 2017]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfpp.12487/abstract>
34. Otero JL, Mestorino N, Errecalde J. 2001a. Enrofloxacin: Una Fluoroquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte I: Química, Mecanismo de acción, Actividad Antimicrobiana y Resistencia Bacteriana. Analecta Veterinaria 21(1):31-41.
35. Otero JL, Mestorino N, Errecalde J. 2001b. Enrofloxacin: Una Fluoroquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte II: Farmacocinética y toxicidad. Analecta Veterinaria 21:42-49.

36. Otero, J.; Mestorino, N.; Errecalde, J. 2000, Enrofloxacin una fluoroquinolona de uso exclusivo veterinaria Parte II farmacocinética y toxicidad, 1. Departamento de Salud Pública Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral 2 Cátedra de Farmacología, Farmacotecnia y Terapéutica. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.
37. Picco, E., Stiefel, S., Cerra, M., Michel, A., Rubio, M. and Formentini, E. (2009) Antibacterianos; certezas e hipótesis acerca de la relación Farmacocinética-farmacodinámica (PK/PD) de los mismos. Panorama Actual del Medicamento. 33-994-1007.
38. Pomboza-Tamaquiza P. 2016. Roles de la crianza de cuyes (*Cavia porcellus*) en sistemas agroecológicos y en la sociedad rural. Ecuador. [Internet], [02 Agosto 2017]. Disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd28/6/pomb28110.html>
39. Ramatla T, Ngoma L, Adetunji M, Mwanza M. 2017. Evaluation of Antibiotic Residues in Raw Meat Using Different Analytical Methods. South África. [Internet], [30 Agosto 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5745477/>
40. Ríos J., Mercadillo P., Yuil E., Ríos M. 2012. ELISA y sus aplicaciones en dermatología. Revista de dermatología cosmética, médica y quirúrgica. Vol. 10/#3. México. [Internet], [08 Noviembre 2018]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2012/dcm123j.pdf>
41. San Martin B, *et al.* 2009. Withdrawal time of four pharmaceutical formulations of enrofloxacin in poultry according to different maximum residues limits. Journal of veterinary pharmacologic and therapeutic. Chile. [Internet], [20 Junio 2017]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2885.2009.01127.x>
42. Shiva R CM. 2007. Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento.

- Tesis Doctoral de Médico Veterinario. Barcelona: Univ. Autónoma de Barcelona. 173 p.
43. Soares L. 1996. Restrições e Uso de Aditivos (Pomotores de Crecimiento) em Rações de Aves. En: Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas–Apinco: 27-36.
 44. Soraci AL, Amanto F, Harkes R, Pérez DS, Martínez G, Dieguez SN, Tapia MO. 2010. Uso estratégico de aditivos: Impacto sobre el equilibrio y salud gastrointestinal del lechón. *Analecta Vet* 30(1): 42-53.
 45. Stephan, G.; Thayer y Charles W. 2008. Serologic procedures a laboratory manual for the isolations, identification and caracterizacion of avian pathogens. 5th edition.
 46. Sumano, L. y Gutierrez, L. 2000. Problemática del uso de enrofloxacin en la Avicultura de México. Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.
 47. Sumano, L. y Ocampo, C. 2006. Farmacología Veterinaria. 3 ed. México. McGraw–Hill; 228p.
 48. Trolldenier, H. 1980. Antibióticos en medicina veterinaria. Ed. Acribia. Zaragoza.
 49. Van Hoof, N., Dwasch, K., Ockerman, L., Reybroeck, W., Poelmans, S., Noppe, H. & Debrabander, H. (2005). Validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantification of eight quinolones in bovine muscle, milk and aquaculture products. *Analytica Chimica Acta*, 529, 265–272.
 50. Villalobos N. 2018. Evaluación de residuos de enrofloxacin en carne de pollo comercializado en el mercado La Hermelinda de la ciudad de Trujillo. Perú. [Internet], [23 Marzo 2017]. Disponible en: http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/3781/1/RE_MED.VETE_NADIA_VILLALOBOS_EVALUACION.DE.RESIDUOS_DATOS.PDF
 51. Yoon J, Brooks Jr R, Khan A, Pan H, Bryan J, Zhang J, Budsberg S, Mueller P, Halper J. 2004. The effect of enrofloxacin on cell proliferation and proteoglycans in horse

tendon cells. Yoon J, Brooks Jr R, Khan A, Pan H, Bryan J, Zhang J, Budsberg S, Mueller P, Halper J. 2004. The effect of enrofloxacin on cell proliferation and proteoglycans in horse tendon cells. Holanda. [Internet], [18 Marzo 2019]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1023/B:CBTO.0000021154.01035.f9>