

## REPORTE FINAL DE ESTUDIO (RF)

1. **Título**  
Detección de Residuos de una suspensión antibiótica comercial en base a Amoxicilina trihidrato (Vetamoxyl L.A.®) en leche vacuna.
2. **Número de Ensayo**  
008-11
3. **Tipo de Estudio**  
Ensayo de laboratorio
4. **Objetivo General**  
Determinar el tiempo de residualidad de una suspensión antibiótica comercial en base a Amoxicilina en leche vacuna.
5. **Investigador Principal**  
Olga Li Elias, Magister Química Farmacéutica del Laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos
6. **Sponsor**  
Agroveter Market S.A.

### 6.1. Equipo de Trabajo

Jose Tang Ploog, Médico Veterinario – Sub Gerente de Investigación y Desarrollo.  
Roxana Angelats Morí, Médico Veterinario – Jefe de Investigación y Diseño Experimental.  
Luis Alfredo Chávez Balarezo, Bachiller en Medicina Veterinaria – Asistente de Investigación y Diseño Experimental.

7. **Lugar de Estudio**  
El estudio comprendió dos fases, la fase de campo y la fase de laboratorio. La fase de campo se realizó en el establo lechero "Casablanca", ubicado en el distrito de Pachacamac de la ciudad de Lima, ubicada en la costa central del Perú, sobre los 75 msnm. Por su parte, el análisis de laboratorio se realizó en las instalaciones del laboratorio de Patología clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
8. **Antecedentes y Justificación**  
La leche es uno de los alimentos más importantes en la alimentación humana debido a su alto valor nutricional, el cual debe ir acompañado de su inocuidad desde su producción hasta el consumo, con el propósito de evitar que se presenten contaminantes físicos, químicos y biológicos en cantidades tales que puedan afectar la salud de los consumidores (Caballero, 2008).

Los antibióticos constituyen uno de los principales contaminantes de la leche (Llanos, 1991) cuando no se aplica el período de retiro necesario. Éstos, son



ampliamente usados en la industria ganadera como agentes terapéuticos, promotores de crecimiento y profilácticos, resultando en la excreción de residuos a través de los fluidos o secreciones corporales como la orina y la leche, así como su acumulación en tejidos corporales (Adesiyun et al., 1997).

La presencia de antibióticos en la leche constituyen una gran preocupación para la salud pública (Lewis, 1967) y la industria lechera (Jones y Seymour, 1988). Esto se debe a la generación de bacterias multi-resistentes y a los procesos alérgicos que ocasiona en el consumidor (Lewis, 1967); así como por la interrupción de los tratamientos fermentativos de la leche (Nascimento et al., 2001; Cogan, 1972). Por esta razón, las empresas lácteas monitorean permanentemente la presencia de estos residuos en la leche que acopian y los resultados son considerados en sus políticas de pago; inclusive, en ciertos países, las regulaciones gubernamentales prohíben la presencia de residuos de antibióticos en la leche destinada al consumo (IDF, 2002).

En este contexto, la industria farmacéutica veterinaria se ve en la exigencia de producir y/o comercializar formulaciones antibióticas que, sin desmedro de su eficacia, tengan un período de retiro muy breve. Así, la amoxicilina trihidrato constituye un antibiótico de elección debido al breve período de retiro que presenta.

Considerando que este fármaco es utilizado ampliamente en la producción de bovinos lecheros, es importante verificar su ausencia en la leche post aplicación, para asegurar así un tiempo de retiro seguro para la salud pública.

#### 9. Fecha de Estudio y duración

El estudio tuvo una duración de 9 días. Se desarrolló entre el 16/01/2011 al 25/01/2011.

#### 10. Materiales y Métodos

##### 10.1. Diseño experimental

Posterior a la selección de los animales, se procedió a tomar una muestra de leche de cada animal mediante el ordeño manual de los cuatro cuartos de cada vaca, para verificar la ausencia de algún tipo de residuo antibiótico. Estas muestras fueron clasificadas como muestra pre tratamiento (Pre-Tto). Luego de descartar la presencia de algún tipo de residuo antibiótico, los animales fueron asignados de manera aleatoria en 2 grupos experimentales de 10 animales cada uno, el Grupo tratamiento (GT) y el Grupo control (GC). El GT fue dosificado con la formulación comercial a base de amoxicilina trihidrato vía intramuscular profunda a una dosis de 15 mg/Kg PV. El GC recibió una aplicación de suero fisiológico vía intramuscular profunda a un volumen de aplicación de 1 ml/10 Kg. de peso vivo.

Una vez realizado el tratamiento se tomaron muestras de leche de todos los animales mediante ordeño manual a las 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 y 108 horas post aplicación, considerándose las 00 horas como el tiempo de aplicación del producto. Todas las muestras fueron mantenidas en cadena de frío según las recomendaciones del laboratorio hasta su posterior análisis.



#### 10.2. Tamaño de muestra

Se trabajó con 20 animales.

#### 10.3. Selección de animales e identificación

Los animales fueron seleccionados aleatoriamente de una población de 80 vacas en producción. Como criterios de inclusión se consideraron animales de segundo parto en mediana producción con un peso promedio de 500kg. Como criterios de exclusión, no se consideraron animales que hayan recibido terapia antibiótica durante los últimos 15 días previos al estudio.

Los animales se encontraron previamente identificados mediante aretes con su nombre respectivo.

#### 10.4. Manejo de los animales experimentales

Los animales fueron alimentados bajo un sistema de alimentación con concentrado especialmente formulado para sus necesidades según su etapa productiva y requerimientos energéticos y agua *ad libitum*.

#### 10.5. Disposición final de animales

Después de terminado el ensayo, los animales siguieron con su curso productivo normal.

#### 10.6. Tratamiento

El producto veterinario en investigación es una fórmula comercial a base de Amoxicilina trihidrato a 15 g cada 100 ml de solución inyectable (Vetamoxyl L.A.®). La administración se ejecutó a una dosis de 1 ml de producto cada 10 Kg. de peso, lo que equivale a 15 mg/Kg de peso vivo del animal. A los animales del grupo control se les aplicó 1ml/Kg. de suero fisiológico.

#### 10.7. Procedimientos de estudio

Las muestras fueron trabajadas en el laboratorio con el Kit Delvotest SP – NT, de acuerdo con la metodología descrita por el fabricante. Delvotest® SP (*Bacillus stearothermophilus* var. Calidolactis), es un test rápido que inhibe el crecimiento y la producción de ácido del microorganismo *Bacillus stearothermophilus* variedad Calidolactis. Con la adición de leche y la subsecuente incubación, el microorganismo germina y produce ácido carbónico. Esto conduce a un cambio en el color del indicador, de púrpura a amarillo. Sin embargo, cuando la muestra de leche contiene sustancias antibacterianas por encima de la sensibilidad de la prueba, el crecimiento bacteriano es inhibido y como resultado el color del agar permanece púrpura. Esta técnica detecta al antimicrobiano por debajo del límite de tolerancia fijada por FDA, USDA (Camacho et al., 2010).

El nivel de detección de Delvotest SP-NT para amoxicilina a tiempo de control es de 2-3 ppb o ng/ml y lectura a 3 horas es de 3-5 ppb o ng/ml. El nivel de detección se refiere a la concentración más baja en la cual una droga es todavía detectada por la prueba, al tiempo control o al tiempo de lectura fijo de 3 horas. Los Límites máximos de residuos (LMR) se refieren a la concentración máxima permitida de alguna sustancia, en este caso antibióticos, en el alimento. Estos valores permiten llevar un control adecuado de las sustancias usadas, protegiendo así la salud pública. El LMR



amoxicilina en leche es de 4 ng/ml (ppb) (Codex Alimentarius, 2012; FDA, 2012; EMEA, 2012). Así, siendo el valor de detección del Delvotest SP-NT menor al LMR establecido, se puede decir que aquellos resultados negativos están por debajo del LMR permitido, lo que le proporciona validez a esta prueba.

#### 10.8. Métodos estadísticos

Se utilizó estadística descriptiva para presentar los datos obtenidos.

### 11. Resultados

Ambos grupos experimentales resultaron negativos a la presencia antibiótica antes del inicio del estudio. Las concentraciones de amoxicilina en leche en los animales del grupo control se encontraron por debajo de los límites de detección de la prueba (2ng/ml que equivale a 0.02ug/ml) desde las 12 horas post aplicación del producto, hasta el término del experimento (108 horas). Por otro lado, el 100% de los animales del grupo tratamiento tuvieron resultados positivos a la presencia de amoxicilina por encima de los límites de detección de la prueba (2ng/ml que equivale a 0.02ug/ml) en leche desde las 12 horas hasta las 84 horas post tratamiento (3 días y medio), con resultados negativos a partir de las 96 horas hasta el final del experimento (cuadro 1). Los resultados de laboratorio se pueden apreciar en el Anexo N°1.

**Cuadro N°1.** Resultados del análisis con Delvotest SP-NT de las muestras de leche (pre y post tratamiento), Establo Casa Blanca, Pachacamac, Enero 2011.

Nombre de la vaca	Grupo	Pre-Tto	Horas Post-Tto								
			12	24	36	48	60	72	84	96	108
Colorina	Tratamiento	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Blanca	Tratamiento	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Tina	Tratamiento	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Estefanía	Tratamiento	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Della	Tratamiento	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Delfina	Tratamiento	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Toama	Tratamiento	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Luisa	Tratamiento	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Zamora	Tratamiento	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Nidia	Tratamiento	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Olivia	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Maria	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bertha	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vero	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jalea	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sabla	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rosita	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lorena	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Aida	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vida	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

### 12. Conclusiones

Se concluye que la leche de animales tratados intramuscularmente con la suspensión antibiótica comercial en base a Amoxicilina trihidrato (Vetamoxyl L.A.®) puede ser destinada para consumo humano con un período de retiro de 96 horas (octavo ordeño).

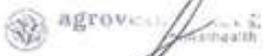


### 13. Autores del RF

**Olga Li Elias**, Magister Química Farmacéutica del Laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.



**José Tang Ploog**, Médico Veterinario Sub-Gerente de Investigación y Desarrollo de Agrovvet Market S.A.



M.V. JOSÉ FERNANDO TANG PLOOG  
GERENTE

**Roxana Angelats Mori**, Médico Veterinario, Jefe de Investigación y Diseño Experimental de Agrovvet Market S.A.



Roxana Angelats DVM  
Jefe de Investigación y Diseño Experimental

**Luis Alfredo Chávez Balarezo**, Bachiller en Medicina Veterinaria – Asistente de Investigación y Diseño Experimental de Agrovvet Market S.A.



### 14. Referencias Bibliográficas

- Adeslyun AA, Webb LA, Balbirsingh V.** 1997. Prevalence of antimicrobial residues in preprocessed and processed cows' milk in Trinidad. *J Food Safety* 16: 301-310.
- Caballero A.** 2008. Control sanitario de la leche y los productos lácteos. Cap.18. En: Caballero A. Eds. *Temas de Higiene de los alimentos*. La Habana: Ciencias Médicas. 382p.



agrovetermarket  
animalhealth

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Facultad de Medicina Veterinaria  
Laboratorio de Patología Clínica  
Av. Circunvalación Cdra. 29 San Broja  
Telf. +35-3348 –Anexo 237



Camacho L, Cipriano M, Cruz B, Gutiérrez I, Hernández P, Peñaloza I, Nambo O. 2010. Residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en la región Tierra Caliente, de Guerrero, México. REDVET Vol.11, N°02 [Internet], [02 junio 2011]. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020210/021009.pdf>

Codex Alimentarius. 2012. Disponible en: <http://www.codexalimentarius.net>

Cogan MT. 1972. Susceptibility of Cheese and Yoghurt Starter Bacteria to Antibiotics. Applied Microbiology. 23(5):960-965.

EMA. 2012. Disponible en: <http://www.emea.europa.eu/emea/>

FDA. 2012. Disponible en: <http://www.fda.gov>

[IDF] International Dairy Federation. 2002. Payment systems for ex-farm milk. Brussels: IDF. Bull N° 379/2002. 65 p.

Jones GM, Seymour EH. 1988. Cowside antibiotic residue testing. J Dairy Sci 71: 1691-1699.

Lewis AK. 1967. Milk Production and Control. 4th ed. London: H.K. Lewis.

Llanos G. 2002. Determinación de residuos de antibióticos en la Leche fresca que consume la población de Cajamarca. Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, V.2 N° 2 p. 35 – 43.

Nascimento GGF, Maestro V, Campos MSP. 2001. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. Rev Nutr 14(2): 119-124.

## 15. Anexos

Anexo N°1. Resultados de Laboratorio  
Evaluación de residuos de Vetamoxyl



Adaptado de Guía VICH GL9 – FDA

SSA – F14 V02  
03.07.12



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA  
Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja  
Telf. 435-3348 – Anexo 237



## INFORME DE EVALUACION DE RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS

Nro. : 008 - 11  
SOLICITANTE : AGROVETMARKET S.A.  
MUESTRA : MUESTRAS DE LECHE VACA (100 muestras)

ANALISIS SOLICITADOS: 1) Evaluación de residuos del antibiótico VETAMOXYL  
(Método DELVOTEST – SP - NT)

FECHA DE SOLICITUD : Enero de 2011.

### RESULTADOS :

CUADRO 1: Evaluación de residuos de Vetamoxyl en Vacas Lecheras

Nombre de la vaca	Producto aplicado	Dosis aplicada (mL)	Pre-Tto	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Colorina	Vetamoxyl	30	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Blanca	Vetamoxyl	30	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Tina	Vetamoxyl	30	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Estefania	Vetamoxyl	25	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Delia	Vetamoxyl	30	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Deifina	Vetamoxyl	30	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Tomasa	Vetamoxyl	35	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Luisa	Vetamoxyl	35	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Zamora	Vetamoxyl	30	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Nidia	Vetamoxyl	30	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Olivia	Suero fisiológico	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mara	Suero fisiológico	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bertha	Suero fisiológico	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vero	Suero fisiológico	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jalea	Suero fisiológico	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sabia	Suero fisiológico	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA  
Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja  
Telf. 435-3348 – Anexo 237



Rosita	Suero fisiológico	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lorena	Suero fisiológico	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aida	Suero fisiológico	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vida	Suero fisiológico	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Lima, 09 de Marzo del 2011.



**M.V. ARNALDO ALVARADO SANCHEZ**  
Área de Microbiología Clínica y Pruebas Especiales  
Lab. Patología Clínica- FMV – UNMSM