

**Universidad de San Carlos de Guatemala
Dirección General de Investigación
Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud –PUIIS-**

**Informe Final
“Circulación de quinolonas en carne bovina para consumo humano en mercados
municipales de la Ciudad de Guatemala”**

Equipo de investigación

Miriam Canet, Coordinadora

Amílcar Dávila

Roderico Hernández

Manuel Lepe López

Guatemala, noviembre de 2017

Unidad Académica Avaladora
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Programa Universitario de Investigación
Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud –PUIIS-

M.Sc. Gerardo Arroyo Catalán
Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

Miriam Johanna Canet Elgueta, Coordinadora

Amílcar Dávila

Roderico Hernández

Manuel Lepe López

Partida presupuestaria: 4.8.63.1.02
Año de ejecución: 2017

Índice

Tema	Página
I. Resumen / Abstract	1 y 2
II. Introducción.....	3
III. Marco Teórico.....	4
IV. Materiales y Métodos.....	14
V. Resultados.....	16
VI. Impacto Esperado.....	16
VII. Análisis y Discusión de Resultados.....	17
VIII. Conclusiones.....	20
IX. Referencias.....	21
X. Actividades de Gestión, Vinculación y Divulgación.....	24
XI. Orden de Pago.....	24

“Circulación de quinolonas en carne bovina para consumo humano en mercados municipales de la Ciudad de Guatemala”

I. Resumen:

La resistencia a los antimicrobianos constituye una amenaza creciente para la salud pública mundial con un alto impacto en morbilidad, mortalidad y costos. El principal factor de riesgo para el desarrollo de resistencia bacteriana es el uso inadecuado y abuso de los antibióticos en medicina humana y veterinaria; en esta última, los antibióticos son utilizados como profilácticos, terapéuticos y promotores de crecimiento. La seguridad alimentaria exige la vigilancia y control de residuos en alimentos. En el caso de residuos antimicrobianos en productos de origen animal, se sabe que producen reacciones alérgicas así como inducción de resistencia en bacterias transmitidas por alimentos como *Salmonella*, *Campylobacter* y *E coli*. Este estudio tuvo como objetivo detectar la presencia de residuos de quinolonas en carne bovina de venta en mercados municipales de la ciudad de Guatemala. Se obtuvieron 161 muestras para análisis. La detección de quinolonas se realizó por metodología de Elisa. Siete de 161 (5%) contenían residuos de antibióticos. Los niveles medios (\pm SE) de quinolonas fueron $16.497 \pm 1.69 \mu\text{g} / \text{kg}$; ningún límite fue superior al límite máximo residual permitido ($100 \mu\text{g} / \text{kg}$). Este estudio indicó que algunas carnes de res vendidas en Guatemala contienen residuos de antibiótico.

Palabras clave: resistencia bacteriana, residuos, antibióticos, productos animales

Abstract:

Antimicrobial resistance is an increasingly serious threat to global public health with a high impact on morbidity, mortality and costs. The main risk factor for the development of bacterial resistance is the inappropriate use and abuse of antibiotics in human and veterinary medicine; in the latter, antibiotics are used as prophylactic, therapeutic and growth promoters. In the case of antimicrobial residues in products of animal origin, it is known that they produce allergic reactions as well as induction of resistance in bacteria such as *Salmonella*, *Campylobacter* and *E coli*. This study aimed to find the presence of quinolones residues in beef meat. Total number of 161 samples were collected from municipal markets in Guatemala city for analysis. Extraction and determination of quinolones were made by Elisa methodology. Seven of 161 (5%) were found to contain quinolone antibiotic residues. The mean levels (\pm SE) of quinolones were found to be $16.497 \pm 1.69 \mu\text{g}/\text{kg}$; no limit was superior than the maximum residual limit allowed ($100 \mu\text{g} / \text{kg}$). This study indicated that some beef meat sold in Guatemala contains residues of quinolone antibiotics.

Keywords: bacterial resistance, residues, antibiotics, animal products

II. Introducción

La resistencia bacteriana es una emergencia pública mundial y representa una amenaza a la salud humana y animal, generando una mayor morbilidad, mortalidad, estancia hospitalaria prolongada, así como fuertes repercusiones económicas para el sistema sanitario (Casellas, 2011). El principal factor de riesgo para el desarrollo de resistencia bacteriana es el uso inadecuado y abuso de los antibióticos en medicina humana y veterinaria (Meek, Vyas & Piddock, 2015). En el sector de la producción animal los antimicrobianos son utilizados como promotores de crecimiento, con fines terapéuticos y profilácticos (Grande, Falcón & Gándara, 2000). Los residuos de estas sustancias o sus metabolitos en la carne y otros alimentos de origen animal pueden causar efectos adversos en la salud de los consumidores (Landers, Cohen, Wittum & Larson, 2012). Las quinolonas merecen un mayor escrutinio ya que no solamente pueden tener un efecto directamente tóxico, producir reacciones de hipersensibilidad, sino que además están asociadas a una mayor inducción de resistencia en bacterias transmitidas por alimentos como *Salmonella*, *Campylobacter* y *E coli* (Subbiah, Mitchell & Call, 2016)

La seguridad alimentaria exige la vigilancia y control de sustancias y residuos, tanto de origen animal como vegetal, en toda la cadena alimentaria desde la producción primaria hasta la distribución final (Garzón, 2009). Dentro de las técnicas existentes para la detección de residuos de antibiótico se destacan el empleo de biosensores por inmuno absorción ligado a enzimas (Elisa) así como cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC/MS) (Talero-Pérez, Medina & Rozo-Núñez, 2014). El límite máximo residual (LMR) se define como aquella concentración aceptable de una sustancia en los tejidos comestibles de un animal (músculos, hígado, riñones, grasa, leche, miel y huevos) y que al ser ingerida por el ser humano no constituye ningún riesgo para su salud. Los LMR se fijan para cada especie animal y para cada tejido siendo el LMR permitido de quinolonas en el músculo de carne de vacuno de 100 µg / kg de acuerdo a lo establecido por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés) de Estados Unidos y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (Garzón, 2009).

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia y concentración de residuos de quinolonas en carne bovina de venta en los 23 mercados municipales autorizados en la ciudad de Guatemala utilizando como una prueba de detección rápida basada en el método Elisa cuya sensibilidad y especificidad es mayor del 90%.

III. Marco teórico y Estado del Arte

A. El problema de la resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana ha sido declarada por OMS como una amenaza pública. Las infecciones respiratorias agudas, enfermedades diarreicas, sarampión, SIDA, paludismo y tuberculosis causan >85% de la mortalidad por infecciones en el mundo. La resistencia a los agentes infecciosos respectivos va de 0 a 100% en fármacos de primera línea y en algunos casos la resistencia a fármacos de segunda y tercera línea afectan significativamente el tratamiento. A esto se agrega la importante carga de enfermedad que representan las infecciones nosocomiales resistentes, los nuevos problemas que plantea la resistencia a fármacos antivirales y los problemas crecientes de resistencia a los medicamentos entre las enfermedades parasitarias olvidadas que afectan poblaciones pobres y marginadas. Genera un alto impacto en morbilidad, mortalidad, costos y días de estancia hospitalaria (OMS, 2011).

En mayo de 2014, la OMS declaró la necesidad urgente de implementar un plan de acción global para la contención del problema (OMS, 2015). Se instó a adoptar medidas encaminadas a promover el uso de los antimicrobianos de manera apropiada y eficaz; a prohibir su dispensación sin la prescripción de un profesional de salud calificado; a mejorar las prácticas para prevenir la propagación de las infecciones y la consiguiente propagación de agentes patógenos resistentes; a reforzar la legislación para impedir la fabricación, venta y distribución de antimicrobianos falsificados y la venta de antibióticos en el mercado paralelo y a reducir el uso de antimicrobianos en la cría de animales destinados al consumo.

B. Uso de antibióticos en veterinaria:

Los antibióticos son sustancias químicas de bajo peso molecular, sintéticas o producidas por microorganismos, que tienen la capacidad, en pequeñas concentraciones, de inhibir el crecimiento e incluso destruir a ciertos microorganismos sensibles.

Los antibióticos constituyen uno de los agentes farmacológicos empleados de forma reiterativa en veterinaria principalmente para tres fines:

1. Terapéuticos
2. Profilácticos
3. Promotores de crecimiento

- **El uso de antibióticos como terapéuticos y profilácticos:**

Los antibióticos se incorporan a los piensos en forma de pre mezclas medicamentosas (sólidas o líquidas) a concentraciones elevadas de fármaco (100 a 1000 mg/L) y se administran durante periodos cortos (Grande et al., 2000).

- **El uso de antibióticos como promotores del crecimiento animal:**

Los promotores de crecimiento son sustancias naturales o sintéticas con actividad farmacológica que se administran a los animales sanos a través de los piensos para acelerar la ganancia de peso y mejorar los índices de transformación de los alimentos. Estos promotores de crecimiento pueden ser de tres tipos (Grande et al., 2000):

- a) antibióticos y quimioterapéuticos de actuación sobre la microflora bacteriana del tubo digestivo. Se utilizan como aditivos en concentraciones de 30 a 100 mg/L (sub terapéuticas), administrados por periodos largos.
- b) sustancias ionóforas de actuación sobre el rumen
- c) anabolizantes, generalmente sustancias de tipo hormonal, los cuales actúan como promotores de crecimiento mediante una acción sobre el metabolismo

Algunos de los antibióticos administrados como promotores del crecimiento se absorben poco en el tracto gastrointestinal de los animales, eliminándose a través de las heces a elevadas concentraciones; otros antibióticos, por el contrario, se absorben a nivel intestinal y son eliminados por la orina dispersándose en el medio ambiente. (Grande et al., 2000). La dosificación de los antibióticos en la promoción del crecimiento conlleva el mayor riesgo ya que a menudo se dan dosis inhibitorias sub óptimas creando condiciones que pueden favorecer la selección de bacterias resistentes vinculándose con el incremento

de casos de resistencia a los medicamentos antimicrobianos administrados en la medicina humana (Landers et al., 2012).

- **Consecuencias de la presencia en los alimentos de origen animal de bacterias resistentes procedentes de los animales:**

Debido al considerable potencial de los alimentos y agua de consumo humano para vehicular bacterias de origen animal y ambiental, actualmente se considera que la transmisión de bacterias mediante alimentos de origen animal puede tener un importante papel en la aparición de resistencias a antibióticos en los seres humanos (Meek, Vyas & Piddock, 2015).

Salmonella y *Campylobacter* son dos de los responsables más frecuentes de enfermedades transmitidas por los alimentos, y se ha constatado una creciente resistencia a los antimicrobianos en ambas bacterias. En la mayoría de los casos de diarrea por *Salmonella* no es necesario un tratamiento antibiótico ya que el cuadro clínico se autolimita; sin embargo, puede producirse infección sistémica, sepsis y muerte en cuyo caso las drogas de elección son fluorquinolonas y las cefalosporinas de tercera generación. Se han registrado brotes por *Salmonellas* no tifoideas multiresistentes tanto en Europa como en los Estados Unidos de América. En algunos casos no se ha dispuesto de un tratamiento antibiótico eficaz (INFOSAN, 2008).

Las infecciones gastrointestinales causadas por *Campylobacter* pueden manifestarse como gastroenteritis autolimitadas o como una diarrea más grave. Asimismo, pueden cursar con complicaciones secundarias, como artritis reactiva y síndrome de Guillain-Barré. En al menos 10% de los casos suele ser necesario un tratamiento antibiótico. En estos casos, los fármacos de elección son los macrólidos (eritromicina) o las fluorquinolonas. Se está constatando una resistencia creciente a éstas, en particular a ciprofloxacina. Los datos disponibles indican que gran parte de esta resistencia guarda relación con el uso de las fluorquinolonas en animales productores de alimentos. Los países que prohíben utilizarlas en dichos animales (Australia) o las administran con mucha moderación (Suecia) tienen niveles muy bajos de resistencia a ellas. Por el contrario, en los países con tasas mucho más altas de uso de estos antimicrobianos en animales productores de alimentos (España, China, EE.UU.) es frecuente observar resistencia a las fluorquinolonas en *Campylobacter*, tanto en aislamientos animales como humanos (INFOSAN, 2008).

Es motivo de preocupación la reciente aparición de resistencias a antimicrobianos en patógenos transmitidos por los alimentos ya que una vez que las bacterias resistentes colonizan a un ser humano a través de los alimentos, pueden transmitirse a otros humanos (Landers et al, 2012). Actualmente, se necesitan recurrir a estrategias de biología molecular y a estudios de tipo epidemiológico que demuestren la composición idéntica de los genes de resistencia de las bacterias de origen animal y ambiental y de las bacterias patógenas para los humanos, si se desea conocer más a fondo las bases que explican la transmisión de aquella resistencia (Cogliani et al., 2011). También es importante destacar que para disminuir el riesgo de que estas bacterias resistentes de origen animal lleguen a los humanos por medio de la cadena alimentaria es imprescindible el respeto estricto de las normas de higiene en todos los niveles del ciclo de producción animal así como el control en la calidad alimentaria (Garzón, 2009).

C. Estrategias:

En los últimos años, el uso veterinario de antibióticos, especialmente los empleados como promotores de crecimiento animal, está siendo objeto de duras críticas y presiones legales. En la mayoría de casos, los antimicrobianos son usados sin ningún control siendo administrados en numerosas ocasiones de forma inapropiada e inadecuada. Sorprendentemente, más antibióticos se utilizan en los EE.UU. para estimular el crecimiento de los animales que en la medicina humana. Aparte de la prescripción incorrecta de antimicrobianos por parte del facultativo, hay otra serie de factores que contribuyen al mal uso terapéutico de estos agentes como son: la dispensación de medicamentos veterinarios en establecimientos distintos a los autorizados (tiendas de animales de compañía, explotaciones ganaderas), la dispensación de antimicrobianos sin necesidad de presentar la receta veterinaria, o el empleo de antimicrobianos no autorizados en el sector veterinario (Gimeno & Ortega, 2005) .

Según datos publicados por OMS e INFOSAN (2008), la contención de la resistencia a antimicrobianos derivada del uso no humano de éstos debería ser una actividad multisectorial en que se incluyan las siguientes estrategias:

- Promover la aplicación por parte de los países de los principios mundiales OMS para la contención de la resistencia a los antimicrobianos en los animales destinados al consumo

- En colaboración con gobiernos y organizaciones no gubernamentales, organismos internacionales como la FAO y la OIE elaboración y promoción de directrices destinadas a los veterinarios y relativas a la utilización prudente de antimicrobianos en animales para la protección de la salud humana.
- Promover la vigilancia integrada de la resistencia a los antimicrobianos. Ello incluye recopilar y analizar datos sobre el empleo de antimicrobianos y datos sobre resistencia a antimicrobianos obtenidos de aislamientos animales (en explotaciones o mataderos, así como muestras de animales enfermos procedentes de clínicas veterinarias), aislamientos de alimentos al por menor y aislamientos de origen humano.
- Promover la creación de redes de vigilancia para el intercambio de información sobre aparición de resistencias a los antimicrobianos.
- Fomentar y financiar actividades educativas y de investigación.
- Fomentar los incentivos para el desarrollo de nuevos antimicrobianos.

D. Quinolonas:

Las quinolonas son una de las familias de antibióticos sintéticos más empleados en la actualidad, tanto en la medicina humana como en veterinaria (Orden Gutiérrez & de la Fuente López, 2001), esto en gran parte por la comercialización de casas farmacéuticas. Las quinolonas son compuestos heterocíclicos aromáticos que se caracterizan por que en su estructura química está presente el anillo de la piridona, con un grupo carboxilo libre o protegido en la posición 3. Estos compuestos son activos frente a un amplio espectro de bacterias gram-negativo y gram positivo (Álvarez-Hernández, Garza-Mayén & Vázquez-López, 2015).

Actualmente existen cuatro generaciones de quinolonas usadas como agentes quimioterápico:

- Primera generación: ácido nalidíxico, ácido oxolínico, ácido piromídico, ácido pipemídico, cinoxacina y resoxacina.
- Segunda generación: norfloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina, pefloxacina, enrofloxacin, flerofloxacin.

- Tercera generación: lomefloxacina, levofloxacino, dofloxacina, amifloxacina, temafloxacina, lomefloxacina, esparfloxacina, tosufloxacina, clinafloxacina, sarafloxacina
- Cuarta generación: gatifloxacina, moxifloxacina, trovafloxacina, balofloxacina, gemifloxacina, pazufloxacina (Álvarez-Hernández et al., 2015).

El grupo antibiótico quinolonas bloquea la actividad de la subunidad A de la ADN girasa bacteriana (topoisomerasa II). Las quinolonas de tercera y cuarta generación son más selectivas al dominio ligasa de la topoisomerasa IV. Las quinolonas se absorben adecuadamente una vez ingeridas y se distribuyen de manera amplia en los diversos tejidos corporales. Después de ingerir los fármacos, los alimentos no aminoran la absorción, pero pueden prolongar el lapso que media hasta que se alcanzan las concentraciones máximas. La dosis depende de la quinolona administrada (Álvarez-Hernández et al., 2015). La biodisponibilidad de las fluoroquinolonas excede de 50 por ciento con todos los medicamentos; con algunos rebasa el 95 por ciento (Álvarez-Hernández et al., 2015). En animales la quinolona más utilizada es la enrofloxacina (Börjesson, Guillard, Landén, Bengtsson & Nilsson, 2015)

E. Calidad en los alimentos:

Los residuos de cualquier medicamento veterinario, en general, son sustancias farmacológicamente activas (ya sean principios activos, excipientes o bien productos de degradación y metabolitos) que permanecen en los productos alimenticios obtenidos a partir de animales a los que se les ha administrado el medicamento veterinario. La localización de estos residuos es variable. El tejido muscular y la grasa son los lugares preferentes. La toxicidad de estos residuos varía desde la inocuidad hasta presentar consecuencias clínicas, hematológicas, bioquímicas, anatomopatológicas o incluso, causar la muerte (Anadón, 2007).

La calidad higiénica sanitaria de un alimento implica que éste tenga ausencia de microorganismos patógenos, que posea un bajo número de microorganismos saprofitos y que no contenga residuos de sustancias químicas, entre los que se incluyen sustancias anabólicas y fármacos (Garzón, 2009). La evaluación de la seguridad de los residuos se realiza siguiendo un proceso conocido como análisis de riesgos que abarca tres fases:

evaluación, identificación y caracterización del riesgo, evaluación de la exposición, gestión y comunicación del riesgo (Grande et al., 2000).

La evaluación del riesgo supone la identificación de los residuos potencialmente peligrosos presentes en los alimentos y la evaluación cualitativa y cuantitativa de sus efectos. Se establecen los siguientes términos (Anadón, 2007):

- NOEL nivel sin efecto para cada sustancia activa ("no-observed-effect-level");
- IDA (ingesta diaria aceptable) que es la cantidad de residuos que puede ser consumida diariamente por el hombre durante toda su vida sin riesgo apreciable para la salud

En la evaluación de la exposición se estima cuantitativamente la ingesta de los residuos en función de una dieta estándar que incluye la totalidad de los alimentos en los que pueda aparecer el residuo de interés.

El límite máximo residual (LMR) se define como aquella concentración aceptable de una sustancia en los tejidos comestibles de un animal (músculos, hígado, riñones, grasa, leche, miel y huevos) y que al ser ingerida por el ser humano no constituye ningún riesgo para su salud. Los LMR se fijan para cada especie animal y para cada tejido (Garzón, 2009). De este modo, el valor del LMR de toda sustancia farmacológicamente activa quedará fijado como una pareja compuesta por un residuo marcador y el tejido diana correspondiente para cada especie animal productora de alimentos. En el caso de residuos de quinolonas en músculo de res el LMR permitido es de 100 µg /kg.

Para garantizar que la concentración residual de los antibióticos no sea superior a su correspondiente LMR, es necesario establecer un tiempo de espera. Este tiempo de espera es el plazo de tiempo que debe transcurrir, y ser respetado, desde el último tratamiento farmacológico hasta el sacrificio de los animales para poder consumir la carne o recoger sus productos (leche, huevos) para su comercialización. Estos tiempos se determinan en función del perfil cinético de la eliminación tisular de los fármacos (inalterado y/o metabolitos) en los animales. Cada antibiótico debe ir acompañado de un prospecto en donde conste el valor del tiempo de espera. Saltarse estas indicaciones supone un riesgo para la salud de los consumidores y un riesgo de incurrir en infracciones penales para quien así lo realice (Grande et al., 2000).

F. Análisis de quinolonas en alimentos de origen animal:

Las técnicas cromatográficas son las de más amplio alcance para la detección y cuantificación de los residuos de antibióticos en alimentos. Dentro de las técnicas existentes se destacan el empleo de biosensores por inmuno absorción ligado a enzimas (Elisa), el cual permite manejar gran número de muestras debido a su bajo costo y facilidad operativa, siendo un ensayo rápido para la evaluación cualitativa y presuntiva de los antibióticos en los alimentos de origen animal (Talero-Pérez et al., 2014).

G. Mercados municipales en la Ciudad de Guatemala:

Un mercado se define como aquel que da abastecimiento de productos básicos en un edificio establecido. De acuerdo a datos publicados por la Municipalidad de Guatemala existen 23 mercados minoristas municipales y 17 satélites (Municipalidad de Guatemala, 2016).

Nombre	Número de Puestos	Nombre	Número de Puestos
El Guarda	2899	El Gallito	328
Central	852	San José Mercantil	627
Terminal	4464	Candelaria	73
Sur Dos	1176	La Reformita	231
La Presidenta	507	La Asunción	130
Colon	467	Flores	108
Cervantes	623	Roosevelt	264
Parroquia	143	Santa Fé	112
La Palmita	504	Bethania	267
La Villa	111	Justo Rufino Barrios	87
El Granero	1152	La Florida	1081
San Martin	967		

H. Estado del Arte

SENTRY es un sistema de vigilancia de resistencia antimicrobiana con más de 80 centros, incluidos al menos 10 vigías en Latinoamérica. De acuerdo a los últimos datos publicados y haciendo énfasis en el porcentaje de cepas resistentes a quinolonas se encontró lo siguiente: *Staphylococcus aureus* (35%), *Enterococcus* (50%), *Pseudomonas* (45%), *Acinetobacter* (70%) y *E. coli* (40%).

En América Latina en general, 8 % de las cepas de *E. coli* y 40% de las cepas de *Klebsiella* son productoras de beta lactamasa (ESBL), lo que les confiere susceptibilidad únicamente a carbapenémicos, antimicrobiano de amplio espectro, dejando de lado el posible uso de fluorquinolonas (Casellas, 2011).

En Guatemala, en el año de 1998, Vásquez reporto la sensibilidad antimicrobiana en urocultivos de paciente pediátricos del IGSS encontrando una resistencia a quinolonas mayor del 90%. En el 2011 se publicó en la Revista del Colegio de Médicos un estudio retrospectivo que evaluaba la etiología bacteriana de las infecciones de tracto urinario en el periodo 2005-2010 así como los patrones de resistencia encontrados. Se analizaron 69,222 urocultivos de los cuales 11,164 fueron positivos. *E. coli* se encontró en el 50% de los aislamientos con resistencia a SXT 58.3%, ESBL 27% y ciprofloxacina 36.7%.

Datos de vigilancia de resistencia antimicrobiana en el Hospital Roosevelt durante los años 2011-2012 reportan que en relación a las cepas de *E. coli* y *Klebsiella*, 32% y 54% respectivamente son ESBL positivas. Se reporta además que 1.2% de éstas son resistentes a imipenem y meropenem (fármacos de elección). Así mismo se reportaron 133 de 140 cepas *Acinetobacter* multi drogo resistentes.

En el año 2015, Alvarado reportó 41 % resistencia a quinolonas en muestras procedentes de urocultivos de pacientes que consultaban a emergencia de Medicina Interna del Hospital Roosevelt.

En estudios que se han realizado en el ámbito de la medicina veterinaria y el aislamiento de cepas resistentes, Ortiz reportó en el 2006 la presencia de *Salmonella Sp* en 57% de las muestras analizadas de carne de pollo que se vende los mercados de la ciudad de Guatemala. En el año 2015, Álvarez-Hernández y colaboradores encontraron que de todos los aislamientos de *Salmonella* 59.2% eran resistentes entre 1 a 3 antimicrobianos y 13.6% a cuatro o más. Se encontró resistencia a enrofloxacin (52.4%), tetraciclina (40.7%), TMP-SMX (37.9%) y estreptomycin (35.9%). Los perfiles de resistencia a

antibióticos eran elevados en relación con otros informes procedentes de América del Norte y del Sur.

Benoit y colaboradores en 2014, realizó un estudio en pacientes en hospitales regionales y centros de salud aledaños en el departamento de Quetzaltenango y Santa Rosa en el que detectó cepas de *Campylobacter* resistentes a cuatro clases de antibióticos siendo la resistencia a quinolonas de 59.4%, cifra mayor a la reportada en el continente americano y otros continentes.

Se han realizado diversos estudios para determinar la presencia de residuos de antibióticos en productos de consumo de origen animal, principalmente en leche. Martínez en 2009, recolectó un total de 48 muestras de leche del tanque de enfriamiento de la COOPROLECHE en distintas épocas del año, de este total de muestras 12,5% dieron positivo a la prueba de detección de residuos de antibióticos beta lactámicos y tetraciclinas utilizando la prueba de ensayo tipo Elisa competitivo de fase sólida denominado Snap®. En este mismo estudio se determinó que los antibióticos inyectables más utilizados son el ceftiofur sódico (81,25%); la penicilina G benzatínica, procaínica, potásica en combinación con sulfato de estreptomicina (56,25%) y oxitetraciclina LA (50%). Así mismo, se determinó que se administran otros antibióticos como la lincomicina y norfloxacin, pero por el tipo de prueba utilizado no pudieron ser detectados.

IV. Materiales y métodos

A. Tipo de investigación: Estudio exploratorio de corte transversal

B. Técnicas e Instrumentos/Procedimiento:

Recolección de muestra

Se recolectaron 161 muestras de carne corte costillar de los 23 mercados municipales ubicados en la ciudad de Guatemala. Fueron muestreados la totalidad de puestos de carne en cada mercado municipal. Las muestras fueron identificadas con lugar y fecha y conservadas en una hielera para preservar una temperatura de 7 °C. Inmediatamente después de la recolección, las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Desarrollo de Soluciones Globales (DSG) en donde se realizó el análisis.

Análisis de muestras

Los residuos de quinolonas se determinaron mediante la metodología Elisa usando el kit Ridascreen Quinolones / Elisa ® (R-Biopharm AG, Darmstadt, Alemania). El ensayo se realizó de acuerdo con las directrices del fabricante. El kit ELISA mostró especificidad a ciprofloxacina (100%), norfloxacina, enrofloxacin, marbofloxacina, danofloxacina, difloxacina, flumequin, ofloxacina (> 100%), sarafloxacina (43%) y ácido oxolínico (24%). El límite de detección de la prueba es de 10 ppb (10 µg/kg). El resultado se interpreta de forma cualitativa como positivo o negativo y de forma cuantitativa en partes por billón.

Análisis estadístico

Los datos fueron tabulados en Excel analizándose mediante el software XL STAT. Para las variables categóricas se realizó descripción de frecuencias y porcentajes y para las variables continuas, medias y desviación estándar.

D. Operacionalización de las variables o unidades de análisis:

Tabla 1. Operacionalización de variables o unidades de análisis

Objetivo específicos	Variables	Técnicas	Instrumentos	Medición o cualificación
Determinar la presencia de residuos de quinolonas en carne bovina	Residuos de quinolona	Test de detección de Elisa	Boleta de Recolección de Datos	Presencia o ausencia
Cuantificar la cantidad de residuos en muestras positivas a quinolonas en la carne bovina en estudio.	Residuos de quinolona	Test de detección de Elisa	Boleta de Recolección de Datos	Partes por millón
Determinar si existe diferencia en la presencia de residuos de antibióticos según el sitio de recolección de la muestra	1.Sitio de Recolección de muestra 2.Residuos de quinolona	Tablas de contingencia Test de detección de Elisa	Boleta de Recolección de Datos	Presencia o ausencia

V. Resultados

Objetivo	Resultados esperados	Resultados obtenidos
Determinar la presencia de residuos de quinolonas en carne bovina expendida en mercados municipales de la ciudad de Guatemala	Establecer el porcentaje de positividad de la muestra de 23 mercados municipales	7/161 (5%) muestras de carne bovina analizadas fueron positivas para la detección de residuos de quinolonas mediante la metodología Elisa.
Cuantificar la cantidad de residuos en muestras positivas a quinolonas en la carne bovina en estudio.	Establecer un rango numérico de residuos de quinolonas en muestras positivas.	La concentración de quinolonas en las muestras positivas fue de 16.49 $\mu\text{g}/\text{kg} \pm 1.69$.
Determinar si existe diferencia en la presencia de residuos de antibióticos según el sitio de recolección de la muestra.	Determinar si el sitio está asociado a la presencia de quinolonas en carne.	El mayor número de muestras positivas (71%) proviene de departamento de Petén según encuesta realizada a vendedores.

VI. Impacto esperado:

El presente estudio permitió conocer la situación real de la presencia de residuos de quinolonas en carne de res para consumo humano en la ciudad capital de Guatemala y con ello compararnos a nivel global de acuerdo a datos publicados por otras regiones.

Se espera con los resultados poder impactar en el control de resistencia bacteriana en veterinaria y generar líneas de investigación que permitan responder otras preguntas como ¿Qué antibióticos están circulando con mayor frecuencia en ganado, pollo y cerdos?, ¿Es Petén un foco de intervención urgente? ¿Cuáles son las cantidades de residuos de antibióticos que ingiere un guatemalteco promedio por libra de carne de res?, ¿Qué

cantidades de residuos son necesarias para crear resistencia antimicrobiana?, ¿A cuánto tiempo del consumo de carne con residuos se puede desarrollar cierta resistencia?

VII. Análisis y Discusión de Resultados:

Los residuos de antibióticos en los alimentos de origen animal suponen un problema de salud pública y un riesgo para la salud humana, ya que éstos han sido relacionados con reacciones de hipersensibilidad así como inducción de cepas resistentes (Nisha, 2008).

Teniendo en cuenta la importancia y las estrictas regulaciones en seguridad alimentaria, en muchos países se realizan periódicamente muestreos de residuos de antibióticos en alimentos como aves de corral, ganado y leche (Garzón, 2009).

Respecto a residuos de antibiótico en ganado, Kaya et al. (1992) informaron que la tasa de residuos de antibióticos en bovino era del 18% (15/85 muestras analizadas). En Sudán, 52/300 (17.33%) de bovinos evaluados mostraron resultados positivos para la presencia de antibióticos en uno o más órganos (riñón 10%, hígado 7.66% y músculo 3%) (Alla, Mohamed & Abdelgadir, 2011). En Ghana, la prevalencia total de residuos de antibióticos en alimentos de origen animal fue del 21,1% en 634 muestras analizadas (30.8% en carne de res) (Donkor, Newman, Tay, Dayie, Bannerman, et al, 2011). Otro estudio demostró que 60 /104 (57,7%) muestras de carne de res fueron positivas para quinolonas con niveles medios (\pm SE) de $6.64 \pm 1.11 \mu\text{g} / \text{kg}$. (Er, Onurdağ, Demirhan, Özgacar, Öktem, et al, 2013). En Egipto de 600 bovinos analizados, 2% presentó resultado positivo para residuos de oxitetraciclinas; 1.33% por encima del límite máximo residual permitido (Morshdy, El-Atabany, Hussein, & Wageh Sobhy Darwish, 2013). Omotoso & Omojola (2015) demostraron que mediante análisis microbiológico el 50%, 55% y 40% de las carnes de res, pollo y cerdo, respectivamente, fueron positivas para la presencia de residuos de antibióticos. En Vietnam se llevó a cabo un plan de seguimiento de antibióticos residuales en alimentos de origen animal entre los años 2012 a 2013 obteniendo un 7.4% de positividad en las muestras de res analizadas (Yamaguchi, Okihashi, Harada, Konishi, Uchida, et al, 2015).

En Guatemala, no se conocían hasta ahora datos de la circulación de residuos de quinolonas en bovino. En comparación con lo reportado en la literatura, se evidencia un menor porcentaje de positividad de detección de residuos de quinolonas (5%). Esto puede deberse a múltiples factores entre los que cabe mencionar el alto costo de las quinolonas en el mercado y su mayor utilización en el sector avícola comparado con el sector ganadero. Estudios realizados en el país han demostrado la presencia de cepas de *Salmonella Sp* y *Campylobacter* aisladas en carne de pollo resistentes a enrofloxacin en un 52% - 59%, respectivamente, cifra mayor a la reportada en el continente americano y otros continentes (Álvarez-Hernández, 2015; Benoit et al, 2014; Ortiz, 2006) demostrando de manera indirecta la utilización de quinolonas en el ámbito veterinario.

Si bien la presencia de residuos de quinolonas fue baja en este estudio, debe considerarse que sean otros grupos de antimicrobianos los que se encuentren circulando por lo que estudios que consideren su tamizaje son necesarios. En Guatemala ya se han realizado diversos estudios para determinar la presencia de residuos de antibióticos en productos de consumo de origen animal, principalmente en leche. Martínez en 2009, demostró que 12.5% de 48 muestras de leche resultaron positivas a la prueba de detección de residuos de antibióticos beta lactámicos y tetraciclinas.

Estudios han demostrado mayores concentraciones de fármacos a nivel hepático en animales por lo que se debiera de considerar este tejido para su análisis. Así mismo, la utilización de pruebas que contengan una mayor sensibilidad y especificidad podrían dar resultados diferentes. Los resultados son válidos para las muestras obtenidas durante el estudio; sin embargo, los resultados pueden cambiar periódicamente, por lo tanto, los pasos en el procesamiento de alimentos deben mantenerse bajo monitoreo continuo para prevenir niveles sobre expresados de residuos de quinolonas.

Es de resaltar que el mayor número de muestras positivas para residuos de antibióticos provienen de Petén. Es importante tomar en cuenta que la ubicación de los rastros de donde provenían las carnes fue proporcionada por el vendedor al momento de la toma de muestra limitando así la confiabilidad. En el país existen varios rastros que no son aprobados ni vigilados por el Ministerio de Agricultura y Ganadería impactando en el control, calidad e inocuidad del producto; así mismo, no existen programas que permitan determinar la trazabilidad de las reces desde su crianza hasta la venta final así como

tampoco programas para determinar la trazabilidad de los antibióticos desde su importación al país. Estudios que sean dirigidos a Petén deben realizarse considerando que es el departamento con mayor producción de ganado en el país. Es posible que en dicha área se estén utilizando antimicrobianos de mayor espectro y costo como las quinolonas con el fin de reducir el impacto económico que pudiera presentarse por pérdidas debidas a infecciones y brotes.

Se considera que las muestras de carne obtenidas durante el período de estudio excluyen los riesgos para la salud en términos de la presencia de quinolonas aunque se desconocen datos de la exposición crónica a estos residuos. En términos de prevención de la resistencia a los antibióticos en humanos, la baja cantidad de residuos de quinolonas observada en este estudio representa un resultado positivo. Debe sin embargo mantenerse un estricto control y monitoreo en el uso de antimicrobianos en el sector veterinario particularmente porque en el país no existen políticas de Estado ni leyes que regulen su uso controlado.

VIII. Conclusiones:

1. El 5% de las muestras analizadas fue positiva para la detección de residuos de quinolonas
2. La concentración de quinolonas en las muestras positivas fue de $16.49 \mu\text{g} / \text{kg} \pm 1.69$
3. Ninguna de las muestras tiene un valor superior al límite máximo residual permitido ($100 \mu\text{g} / \text{kg}$)
4. El mayor número de muestras positivas para la detección de residuos de quinolonas proviene del departamento de Petén.

IX. Referencias

- Acevedo, D., Montero, P. M., & Jaimes, J. D. (2015). Determinación de antibióticos y calidad microbiológica de la carne de pollo comercializada en Cartagena (Colombia). *Información Tecnológica*, 26 (1), 71-76.
- Alla, M. B. W., T. E. Mohamed, and A. E. Abdelgadir. 2011. Detection of antibiotics residues in beef in Ghanawa Slaughterhouse, Khartoum State, Sudan. *AJFS* 5:574-580.
- Alvarado, L. A. (2015) *Resistencia Bacteriana en Infecciones del Tracto Urinario adquiridas en la comunidad*. Tesis de maestría. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala
- Alvarado, S., Ascanio, E., & Méndez, C. (2008). Determinación de residuos de oxitetraciclina en muestras de tejido bovino destinadas al consumo humano. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 49(2), 73-79.
- Álvarez-Hernández, D. A., Garza-Mayén, G. S., & Vázquez-López, R. (2015). Quinolonas: Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia. *Revista Chilena de Infectología*, 32(5), 499-504.
- Anadón, A. (2007). *Antibióticos de uso veterinario y su relación con la seguridad alimentaria y salud pública*. Madrid, España. Instituto de España, Real Academia de Ciencias Veterinaria. Recuperado de <http://racve.es/files/2013/03/2007-02-10-Discurso-ingreso-D.-Arturo-Ram%C3%B3n-Anad%C3%B3n-Navarro.pdf>
- Armitage, P., & Berry, G. (1997). *Estadística para la investigación biomédica* (pp. 444-467). Madrid: Harcourt Brace.
- Benoit, S. R., Lopez, B., Arvelo, W., Henao, O., Parsons, M. B., Reyes, L., ... Lindblade, K. (2014). Burden of laboratory-confirmed *Campylobacter* infections in Guatemala 2008–2012: results from a facility-based surveillance system. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 4(1), 51-59.
- Börjesson, S., Guillard, T., Landén, A., Bengtsson, B., & Nilsson, O. (2016). Introduction of quinolone resistant *Escherichia coli* to Swedish broiler population by imported breeding animals. *Veterinary Microbiology* 194, 74-78.
- Casellas, J. M. (2011). Antibacterial drug resistance in Latin America: consequences for infectious disease control. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 30(6), 519-528.
- Cogliani, C., Goossens, H., & Greko, C. (2011). Restricting antimicrobial use in food animals: lessons from Europe. *Microbe*, 6(6), 274.
- Donkor, E. S., Newman, M. J., Tay, S. C., Dayie, N. T., Bannerman, E., & Olu-Taiwo, M. (2011). Investigation into the risk of exposure to antibiotic residues contaminating meat and egg in Ghana. *Food Control*, 22(6), 869-873.
- Er, B., Onurdağ, F. K., Demirhan, B., Özgacar, S. Ö., Öktem, A. B., & Abbasoğlu, U. (2013). Screening of quinolone antibiotic residues in chicken meat and beef sold in the markets of Ankara, Turkey. *Poultry science*, 92(8), 2212-2215.
- Garzón, T. (2009). La inocuidad de alimentos y el comercio internacional. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 22(3), 330-338.
- Gimeno, O., & Ortega, C. (2005). *Antibioterapia y salud pública veterinaria; desarrollo de microorganismos resistentes, mecanismos de resistencia y estrategias para el uso prudente de antibióticos*. Zaragoza, España. Universidad de Zaragoza, Facultad de

- Veterinaria. Recuperado de http://www.sapuvetnet.org/antigo/Pdf%20Files/antib_portugal.pdf
- Grande, B. C., Falcón, M. G., & Gándara, J. S. (2000). El uso de los antibióticos en la alimentación animal: perspectiva actual. The use of antibiotics in animal feeds: an actual perspective. *CYTA-Journal of Food*, 3(1), 39-47.
- Hernández, H., Collado, C. F., Lucio, P. B., & Pérez, M. D. (1998). *Metodología de la investigación* (Vol. 1). México: Mcgraw-hill.
- Jarquín, C., Alvarez, D., Morales, O., Morales, A. J., López, B., Donado, P., ... Doyle, M. P. (2015). Salmonella on raw poultry in retail markets in Guatemala: Levels, antibiotic susceptibility, and serovar distribution. *Journal of Food Protection*, 78(9), 1642-1650.
- Kaya, S., H. Yavuz, F. Akar, B. C. Liman, and A. Filazi. 1992. Mezbahadan sağlanan sığırt et, karaciğer ve bobrek örneklerinde antibiyotik kalıntıları. Ankara Univ. *Vet Fak.* 39:13-29. (In Turkish).
- Koç, F. (2006). Screening of quinolone residues in animal tissues. *Indian Veterinary Journal*, 83(10), 1063-1064.
- Landers, T. F., Cohen, B., Wittum, T. E., & Larson, E. L. (2012). A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential. *Public Health Reports*, 127(1), 4-22.
- Martínez, D. E. (2009). *Determinación de residuos de antibióticos beta lactámicos y tetraciclinas en leche cruda en productores de COPROLECHE* (Tesis de doctorado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Veterinaria, Guatemala.
- Meek, R. W., Vyas, H., & Piddock, L. J. V. (2015). Nonmedical uses of antibiotics: Time to restrict their use?. *PLoS Biol*, 13(10), e1002266
- Mitchell, J. M., Griffiths, M. W., McEwen, S. A., McNab, W. B., & Yee, A. J. (1998). Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and test performance. *Journal of Food Protection*®, 61(6), 742-756.
- Morshdy, A. E., El-Atabany, A. I., Hussein, M. A., & Wageh Sobhy Darwish, W. S. (2013). Oxytetracycline residues in bovine carcasses slaughtered at Mansoura Abattoir, Egypt. *Jpn. J. Vet. Res*, 61, S44-S47.
- Muriuki, F. K., Ogara, W. O., Njeruh, F. M., & Mitema, E. S. (2001). Tetracycline residue levels in cattle meat from Nairobi slaughter house in Kenya. *Journal of Veterinary Science*, 2(2), 97-101.
- Nisha, A. R. (2008). Antibiotic residues-a global health hazard. *Vet World*, 1(12), 375-377.
- Omotoso, A. B., & Omojola, A. B. (2015). Fluoroquinolone residues in raw meat from open markets in Ibadan, Southwest, Nigeria. *International Journal of Health, Animal Science and Food Safety*, 2(1).
- Orden, J. A., & de la Fuente, R. (2001). Repercusiones en la salud pública de la resistencia a quinolonas en bacterias de origen animal. *Revista Española de Salud Pública*, 75(4), 313-320.
- Red Internacional de Autoridades en Materia de Inocuidad de Alimentos y Organización Mundial de la Salud (2008). Comunicado: Resistencia de los antimicrobianos transferida por animales productores de alimentos.

- Reig, M., & Toldrá, F. (2008). Veterinary drug residues in meat: Concerns and rapid methods for detection. *Meat Science*, 78(1), 60-67.
- Sokal, R. R., León, M. L., & Rohlf, F. J. (1979). *Biometría: principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*.
- Subbiah, M., Mitchell, S. M., & Call, D. R. (2016). Not all antibiotic use practices in food-animal agriculture afford the same risk. *Journal of Environmental Quality*, 45(2), 618-629.
- Talero-Pérez, Y. V., Medina, O. J., & Rozo-Núñez, W. (2014). Técnicas analíticas contemporáneas para la identificación de residuos de sulfonamidas, quinolonas y cloranfenicol. *Universitas Scientiarum*, 19(1), 11-28.
- Torres, C., & Zarazaga, M. (2002). Antibióticos como promotores del crecimiento en animales ¿Vamos por el buen camino? *Gaceta Sanitaria*, 16 (2), 109-112.
- Vásquez, C. H. (1998). *Sensibilidad antimicrobiana de los gérmenes aislados en urocultivos en niños menores de 5 años, en el Departamento de Pediatría del IGSS durante el período de enero a diciembre 1997* (Tesis de doctorado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas, Guatemala
- Yamaguchi, T., Okihashi, M., Harada, K., Konishi, Y., Uchida, K., Do, M. H. N.,... & Dao, K. T. V. (2015). Antibiotic residue monitoring results for pork, chicken, and beef samples in Vietnam in 2012–2013. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(21), 5141-5145

X. Actividades de Gestión, vinculación y divulgación realizadas (docencia, extensión):

Dentro de las actividades de divulgación del proyecto realizadas se encuentra la presentación de resultados antes diferentes instancias: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Ministerio de Agricultura y Ganadería, autoridades de OIRSA y Universidad del Valle de Guatemala. El presente proyecto permitió establecer el nexo con autoridades que se encuentran trabajando en el control de resistencia bacteriana a nivel veterinario y médico. Se trabajó en la elaboración de un artículo para su publicación en la revista de DIGI.

XI. Orden de Pago:

Equipo de Investigación

Contratados por unidad avaladora	Otros colaboradores
Amílcar Dávila Roderico Hernández Chea	Manuel Lepe López

Contratados por la Dirección General de Investigación					
Nombre	Categoría	Registro de personal	PAGO DIGI		Firma
			Si	No	
Miriam Canet	Coordinador		x		
Amilcar Dávila	Investigador	11592		x	

Miriam Johanna Canet Elgueta
Coordinadora Proyecto de Investigación

Dra. Hilda Valencia de Abril
Coordinadora Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud –PUIIS-

Ing. Agr. Julio Rufino Salazar
Vo. Bo. Coordinador General de Programas