

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS
BETALACTAMICOS EN LECHE CRUDA EXPENDIDA EN LA CIUDAD DE SAN
JUAN DE PASTO MEDIANTE PRUEBA DE DELVOTEST® EN EL PERIODO
COMPRENDIDO ENTRE EL 15 DE OCTUBRE Y EL 15 DE NOVIEMBRE DE
2007.**

**DIANA SOFIA BENAVIDES ANDRADE
PAULA MARCELA INSUASTY MUÑOZ**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2009**

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS
BETALACTAMICOS EN LECHE CRUDA EXPENDIDA EN LA CIUDAD DE
SAN JUAN DE PASTO MEDIANTE PRUEBA DE DELVOTEST® EN EL
PERIODO COMPRENDIDO ENTRE EL 15 DE OCTUBRE Y EL 15 DE
NOVIEMBRE DE 2007.**

**DIANA SOFIA BENAVIDES ANDRADE
PAULA MARCELA INSUASTY MUÑOZ**

**Trabajo de tesis presentado como requisito parcial para optar al título de
Médico Veterinario.**

**Presidente
JUAN MANUEL ASTAIZA MARTÍNEZ
Médico Veterinario - Zootecnista**

**Co-Presidente
CARMENZA JANETH BENAVIDES MELO
Médico Veterinario**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2009**

“Las ideas y conclusiones aportadas en el presente trabajo de Grado, son responsabilidad exclusiva de sus autores”.

Artículo 1° del Acuerdo No. 324 de 11 de Octubre de 1966, emanado del Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación

Juan Manuel Astaiza Martínez
MVZ, sp.
Presidente

Carmenza Janeth Benavides Melo
MV, sp.
Co - Presidente

Eudoro Gerardo Bravo Rueda
MV
Jurado Delegado

Oscar Mauricio Guerrero Osejo
MV
Jurado

San Juan de Pasto, febrero de 2009

DEDICATORIA

A mis padres, Luis Alfredo Benavides Zambrano, María del Pilar Andrade Calvachi.

A mis abuelos, julio Javier Andrade Narváez, María Teresita del Pilar Calvachi Vivas.

A mis hermanos, Ana Ximena Benavides Andrade y Juan David Benavides Andrade.

A mi sobrina Salome Portilla Benavides.

A mis profesores, amigos y demás familiares.

A mis amigas, Marcela Insuasty Muñoz, Estefanía Paz Salas.

DIANA SOFIA BENAVIDES ANDRADE

DEDICATORIA

A mis padres, Guido Armando Insuasty Guerrero, Marisol Muñoz Chauza

A mis hermanos, Marisol y Guido Insuasty Muñoz.

A Erika Insuasty gracias por todo tu apoyo

A mi a mis amigas, Diana Sofía Benavides, Estefanía Paz Salas.

A Esteban

PAULA MARCELA INSUASTY MUÑOZ

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

La Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Medicina Veterinaria.

A la clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.

Médico Veterinario y Zootecnista JUAN MANUEL ASTAIZA por su asesoramiento en el presente trabajo.

Médico Veterinario CARMENZA JANETH BENAVIDES MELO, por continuar con la asesoría y el apoyo necesarios para culminar este proyecto.

Al Instituto Departamental de Salud de Nariño, por su colaboración a través de la Subdirección de Promoción y Prevención, Oficina de Salud Ambiental; y al laboratorio de Salud Pública de Nariño.

CONTENIDO

	pág.
GLOSARIO	21
RESUMEN	22
ABSTRACT	24
INTRODUCCIÓN	26
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	27
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	31
3. OBJETIVOS	32
3.1 OBJETIVO GENERAL	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4. MARCO TEÓRICO	33
4.1 LA LECHE	33
4.1.1 Definición.	33
4.1.2 Generalidades.	34
4.1.2.1 Variabilidad de la composición	34
4.1.2.2 Alterabilidad	34
4.1.3 Composición nutricional de la leche de vaca	35
4.1.3.1 Agua	35
4.1.3.2 Proteína	35
4.1.3.3 Grasa	36
4.1.3.4 Hidratos de carbono	36

4.1.3.5 Minerales (cenizas)	36
4.1.3.6 Vitaminas	36
4.1.3.7 Acidez	36
4.1.3.8 Células	37
4.1.3.9 pH	37
4.1.3.10 Enzimas	37
Lipasa.	37
Peroxidasa	37
Catalasa	37
Fosfatasa	38
4.1. 4 Leche cruda.	39
Composición físico química de la leche cruda.	40
4.1.5 Condiciones de la leche cruda.	40
4.1.6 Prohibiciones para la leche cruda.	41
Sustancias extrañas en la leche.	41
4.1.7 Especificaciones técnicas de la leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo en las excepciones contempladas en el decreto 2838.	44
4.1.8 Contaminantes de la leche.	44
Sustancias antibactericas.	45
Sustancias antioxidantes.	45
Sustancias insecticidas.	45
Sustancias desinfectantes.	45
4.2. LOS ANTIBIÓTICOS	46

4.2.1. Definición.	46
4.2.2 Clasificación por mecanismo de acción.	46
4.2.3 Principios de la antibiòticoterapia.	47
4.2.4 Problemática del empleo de antimicrobianos.	49
Efectos secundarios de los antimicrobianos.	50
Farmacocinética de los antibiòticos en la glándula mamaria.	52
4.2.5 Antibiòticos β-lactámicos.	52
Características generales.	53
Mecanismo de acción.	55
Mecanismos de resistencia.	55
Farmacocinética.	56
Farmacodinamia.	56
Penicilinas.	57
Bencilpenicilina (penicilina G) y penicilina V.	58
Aminopenicilinas.	59
Penicilinas antiestafilocócicas o penicilinas isoxazólicas	60
Penicilinas antipseudomonas.	61
Cefalosporinas.	62
Cefalosporinas de primera generación.	63
Cefalosporinas de segunda generación.	64
Cefalosporinas de tercera generación.	64
Cefalosporinas de cuarta generación.	65
4.2.6 Repercusión de residuos de antibiòticos en leche.	68

4.3 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS	68
4.3.1 Generalidades.	68
4.3.2 Clasificación.	68
Tests microbiológicos.	69
Difusión en gelosa.	69
Difusión en gelosa y acidificación.	69
Tests Rápidos.	70
Tests específicos.	70
Tests de identificación y cuantificación.	70
Electroforesis.	70
Espectrofotometría con luz ultravioleta.	71
Cromatografía.	72
4.3.3 Delvotest.	73
4.4 SALUD PÚBLICA	73
Implicaciones para la salud pública.	73
4.4.1 Efectos Directos.	74
4.4.2 Efectos indirectos.	74
Resistencia bacteriana.	74
Alergias.	75
Alteración de la flora intestinal.	76
4.5 PRUEBAS PARA DETERMINAR LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DE LA LECHE	77
4.5.1 Generalidades.	77

4.5.2. Porcentaje de grasa mínimo.	77
4.5.3 Porcentaje de extracto seco total (sólidos totales).	78
Métodos gravimétricos.	78
Métodos volumétricos.	79
Métodos basados en la medición de una determinada propiedad.	79
4.5.4 Porcentaje de extracto seco desengrasado.	79
4.5.5 Fosfatasa.	80
4.5.6 Peroxidasa.	81
4.5.7 Densidad.	82
4.5.8 Acidez expresada como ácido láctico.	83
4.5.9 Índice crioscópico.	83
4.5.10 Ekomilk.	84
4.6 PRINCIPALES GRUPOS DE MICROORGANISMOS QUE SE ENCUENTRAN EN LA LECHE.	84
4.6.1 Bacterias Gram +.	84
Bacterias Lácticas.	85
Micrococcos y Staphilococos.	85
Bacterias esporuladas (Bacillaceae).	85
4.6.2 Bacterias Gram-.	86
4.6.2.1 Enterobacterias.	86
Escherichia.	86
Enterobacter.	86
Klebsiella.	86

Citrobacter.	86
4.6.2.2 Achromobacteriaceae.	87
4.6.2.3 Bacterias Gram- diversas.	87
Pseudomonas.	87
Brucella.	87
4.6.3 Principales grupos de hongos que se encuentran en la leche	87
4.6.3.1 Levaduras.	87
Cándida.	87
4.6.3.2 Mohos.	87
4.6.4 Microorganismos de origen mamario.	87
4.6.5. Contaminación de la leche en el exterior de la glándula mamaria.	88
El ambiente.	88
El estado del animal.	88
El estado del ordeñador.	89
Los utensilios y máquinas.	89
La calidad del agua.	89
4.6.6. Alteraciones que causan las bacterias en la leche.	89
Alteración microbiana.	89
Multiplicación de los microorganismos.	90
4.6.7 Tipo de Bacterias.	91
4.6.8. Determinación de la calidad microbiológica en la leche cruda.	92
4.6.8.1 Método indirecto	92

Sedimento.	92
Lacto fermentación.	92
Tiempo de reducción-TRAM.	92
4.6.8.2 Método indirecto	93
Recuento Microscópico Directo.	93
Recuento Estándar en Placa (REP).	93
Recuento de Bacterias mesófilas, Termófilas, Psicrófilas.	93
Coliformes Totales, Coliformes Fecales, Número más Probable (NMP).	93
4.6.8.3 Pruebas Específicas	94
Determinación de Salmonelas, Staphylococcus).	94
Tiempo de Reducción de Azul de Metileno.	94
5. DISEÑO METODOLÓGICO.	97
5.1 LOCALIZACIÓN	97
5.2 POBLACIÓN Y MUESTRA	98
5.3 ANALISIS ESTADISTICO	101
5.4 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS	101
5.5 TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	102
5.6 EQUIPOS Y UTENSILIOS	102
5.7 TECNICAS DE LABORATORIO	104
5.7.1 Preparación de las muestras.	104
5.7.2 Delvotest®.	104
5.7.3 Ekomilk®.	104

5.7.4 Reductasa.	105
6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	106
6.1 DELVOTEST	106
6.1.1. Presencia de antibióticos de la totalidad de las muestras (100 muestras)	107
6.1.2 Presencia de antibióticos de cada establecimiento	108
6.1.3 Análisis de varianza para las propiedades físico químicas.	110
Anova para grasa.	110
Anova para SNF	111
Anova para densidad.	112
Anova para agua agregada.	114
Anova para proteína.	115
6.1.4 Reductasa	116
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	118
7.1 CONCLUSIONES	118
7.2 RECOMENDACIONES.	119
BIBLIOGRAFIA	112
ANEXOS	126

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Composición de la leche de vaca (por cada 100 gramos)	35
Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas generales de la leche entera	39
Tabla.3 Requisitos microbiológicos de la leche.	44
Tabla 4. Causas de la presencia de residuos de penicilina en los suministros de leche	67
Tabla 5. Tabla comparativa de características físicas y químicas de la leche normal y leches adulteradas	77
Tabla 6. Interpretación del TRAM	95
Tabla 7. Variación de resultados con relación a la tabla estandarizada	96
Tabla 8. Presencia de Antibióticos en la totalidad de expendios.	107
Tabla 9. Tabla de frecuencias entre cada establecimiento	108
Tabla 10. ANOVA para índice físico químico grasa.	111
Tabla 11. ANOVA para índice físico químico SNF.	112
Tabla 12. ANOVA para índice físico químico densidad	113
Tabla 13. ANOVA para índice físico químico agua agregada	114
Tabla 14. ANOVA para índice físico químico proteína	115
Tabla15. Análisis descriptivo de las propiedades fisicoquímicas de los 22 expendios.	116
Tabla16. Prueba de reductasa azul de metileno TRAM en los 22 expendios.	117

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Características fisicoquímicas de la leche cruda.	39
Cuadro 2. Clasificación de las penicilinas.	58
Cuadro 3. Inhibidores naturales de la leche.	66
Cuadro 4. Establecimientos que expenden leche cruda.	98
Cuadro 5. Vehículos transportadores de alimentos (Transporte de leche y derivados) reportados ante la dirección Municipal de Salud, Alcaldía Municipal de Pasto.	99
Cuadro 6. Designación numeral a cada expendio	106

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Grafica de la presencia de antibióticos en la totalidad de expendios según delvotest®.	107
Figura 2. Gráfica de comparación de número de muestras con presencia de antibióticos.	109
Figura 3. Representación porcentual del número de muestras con presencia de antibióticos.	110
Figura 4. Representación de medias para grasa.	111
Figura 5. Representación de medias para SNF.	112
Figura 6. Representación de medias para densidad	113
Figura 7. Representación de medias para agua agregada.	114
Figura 8. Representación de medias para proteína.	115

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Prueba de presencia de antibióticos para leche cruda.	127
Anexo B. Pruebas para propiedades físico químicas para leche cruda.	128
Anexo C. Pruebas para tiempo de reductasa para leche cruda.	133

GLOSARIO

LECHE CRUDA: leche que no ha sido sometida a ningún tipo de termización ni higienización.

LECHE CRUDA ENFRIADA: leche que no ha sido sometida a ningún tipo de termización ni de higienización y que se conserva a temperatura de 4°C +/- 2°C para su comercialización.

COMERCIALIZACIÓN DE LECHE CRUDA O LECHE CRUDA ENFRIADA PARA CONSUMO HUMANO DIRECTO: es la venta, distribución u otra forma de transferencia, a título oneroso o gratuito de leche cruda o leche cruda enfriada para consumo humano directo. El proceso de comercialización incluye las actividades de transporte y distribución de la misma en forma móvil o estacionaria.

ZONAS ESPECIALES PARA LA COMERCIALIZACIÓN DE LECHE CRUDA Y LECHE CRUDA ENFRIADA PARA CONSUMO HUMANO DIRECTO: son las zonas geográficas autorizadas excepcionalmente por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, Invima y el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA para la comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo.

ANTIBIÓTICOS β -LACTÁMICOS: Antibióticos de gran difusión y uso, al que pertenecen las penicilinas y cefalosporinas. Caracterizados por poseer un anillo β -lactámico en su estructura química.

CODEX ALIMENTARIUS: Comisión creada en 1963 por la FAO y la OMS para desarrollar normas alimentarias, reglamentos y otros textos relacionados.

CMI: Concentración mínima inhibitoria. Es la concentración mínima requerida de un antibiótico para inhibir a un microorganismo

MRL: Maximun residue limit o límite máximo para residuos. Limite máximo permitido para diferentes sustancias químicas que pueden encontrarse como residuos en diferentes productos.

DELVOTEST: Prueba de amplio espectro para detectar antibióticos β -lactámicos por debajo del MRL aceptado.

EKOMILK: Analizador de leche ultrasónico, diseñado para análisis rápidos, del contenido de grasa, sólidos no grasos, proteínas, densidad y agua agregada en la leche.

RESUMEN

La leche es uno de los productos de la canasta básica familiar que presenta un mayor consumo en la población en general y es también materia prima con la que se elaboran numerosos productos lácteos como mantequilla, queso y yogurt entre otros. Es muy frecuente el empleo de los derivados de la leche en las industrias agroalimentarias, químicas y farmacéuticas en productos como la leche condensada, leche en polvo, caseína o lactosa; es por eso que el estado a través de las autoridades competentes debe asegurar la calidad de este producto mediante decretos y normas.

En la Ciudad de San Juan de Pasto se comercializa leche cruda la cual puede representar un riesgo para la salud humana tanto por sus características físicas y químicas como por la presencia de residuos farmacológicos, dentro de ellos los antibióticos debido al uso inadecuado de los mismos, produciendo alteraciones graves y subclínicas como la resistencia bacteriana, problemas de anafilaxia, alergias y alteración de la flora intestinal en los humanos. Por lo tanto es importante la realización de diferentes pruebas que detecten la presencia o no de residuos farmacológicos.

Se aplicaron 3 pruebas de laboratorio conocidas como: Delvotest® para detectar residuos de antibióticos β -lactámicos.; Ekomilk® para el análisis de las características fisicoquímicas, evaluando las características de: densidad, proteína, grasa, sólidos no grasos y agua agregada; y prueba de reductasa "TRAM" que evaluó el estado higiénico y conservación de la leche; sobre 100 muestras no homogenizadas de leche comercializada en 22 expendios de leche cruda reportados ante la dirección municipal de salud de la alcaldía de San Juan de Pasto. Las pruebas se procesaron en el laboratorio de fisiología de la Universidad de Nariño.

El análisis estadístico se realizó mediante el software SSP, haciendo uso de la estadística descriptiva, comparativa e inferencial. El número de muestras correspondió a 96 (n=96), que se repartieron equitativamente entre los 22 expendios realizando 4 visitas a cada expendio y completar las 100 muestras con una visita mas a 12 expendios escogidos aleatoriamente.

Los resultados obtenidos para la presencia de antibióticos, en las 100 muestras, correspondieron a un 29% para muestras positivas a residuos de antibióticos mediante la prueba Delvotest®; y a un 71% para muestras negativas. Sin ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los expendios que fueron positivos para presencia de residuos de antibióticos.

En cuanto a las características físico químicas (grasa, proteína, densidad, sólidos no grasos y agua agregada), de la leche analizada se afirma que todos los expendios no cumplen con lo establecido en el decreto 616 de 2006 del Ministerio de la protección Social; además no se presentó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre cada uno de los 22 expendios.

Los resultados obtenidos para la prueba de reductasa fueron: 53 muestras presentaron cambios en su coloración antes de los 150 minutos de iniciada la prueba; y 47 muestras no reportaron ningún cambio en su coloración después de 6 horas. La totalidad de los 22 expendios tuvieron cambios en su coloración por lo menos en una de sus muestras por lo tanto ningún expendio cumple con lo establecido en el decreto 2838 de 2006 sobre las características microbiológicas de la leche cruda; se aclara que las muestras no fueron homogenizadas.

ABSTRACT

The milk is one of the products of the basic family basket that presents a major consumption in the population in general and is also a raw material (commodity) with which numerous lacteal products are elaborated as butter, cheese and yogurt between (among) others. There is very frequent the employment of the derivatives of the milk in the food-processing, chemical and pharmaceutical industries in products as the condensed milk, milk in powder, casein or lactose; it (he, she) is because of it that the condition (state) across the competent authorities must assure the quality of this product by means of decrees and procedure.

In the City of San Juan de Pasto there is commercialized raw (unripe) milk which can represent a risk for the human health both for his your physical and chemical characteristics and for the presence of pharmacological residues, inside them the antibiotics due to the inadequate use of the same ones, producing serious and subclinical alterations as the bacterial resistance, problems of anafilaxia, allergies and alteration of the intestinal flora in the human beings. Therefore there is important the accomplishment of different tests that detect the presence or not of pharmacological residues.

Across this one investigation was tried to investigate the quality of raw milk commercialized in the city of San Juan de Pasto given his your great importance in the daily consumption, for this there was realized the microbiological qualitative commercial test, Delvotest, this to detect residues of antibiotics B-lactámicos in the milk. For this one study, there were realized 100 samples of milk commercialized in 22 expenditures of raw milk brought reported before the municipal direction of health of the mayoralty of San Juan de Pasto.

For the analysis of the physicochemical characteristics one possessed the equipment team analyzer of milk Ekomilk bearing the characteristics in mind physically chemistries: density, protein, fat, solid not oily and added water. The samples were tried in the laboratory of pathology of Unersidad de Nariño, the obtained results were compared with the qualiti limits for every parameter established.

In addition the hygienic condition was evaluated and of conservation of the milk by means of the test of reductasa 100 samples were tried in the laboratory of physiology of Unersidad de Nariño.

The statistical analysis was realized by means of the software SSP, using the descriptive, comparative statistics and inferencial. The number of samples corresponded(fitted) to 96 (n=96), you show that they distributed equitably between(among) 22 expenditures realizing 4 visits to every expenditure and aleatoriamente completing 100 samples with a visit mas to 12 select expenditures.

The results obtained for the presence of antibiotics, in 100 samples, corresponded to 29 % for positive samples to antibiotics by means of the test Delvotest; and to 71 % for negative samples. Without any statistically significant difference between the expenditures that were positive for presence of antibiotics.

As for the characteristics physicist chemistries (fat, protein, density, solid not oily and added water), of the analyzed milk steadies himself that all the expenditures do not expire with the established in the decree 616 of 2006 of the Department of the Social protection; in addition one did not present any statistically significant difference between each of 22 expenditures.

INTRODUCCIÓN

La calidad de los alimentos para consumo humano debe verificarse de manera rutinaria y estandarizada para prevenir, detectar y controlar problemas sanitarios. La leche se considera un alimento que debe tener ciertas características fisicoquímicas, nutricionales y no debe presentar residuos farmacológicos superiores a los límites máximos permisibles.

Según el estudio realizado por las autoridades sanitarias ICA de Sucre realizado en el año 2006, detectaron que a nivel de productores, proveedores y procesadores no existen controles para la detección de residuos de antibióticos ni de Brucellas en leche cruda, ni tampoco se respetan los tiempos de retiro de los antibióticos en los animales tratados.

En Colombia no se cuenta con legislación nacional sobre criterios y límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Actualmente se consideran oficiales los límites máximos de residuos establecidos por el Codex Alimentarius de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO y de la Organización Mundial de la Salud, OMS.

El uso inadecuado de antibióticos en animales para consumo humano, conduce a la presencia de residuos de estas sustancias en los mismos. A esto se le suma la falta de controles de calidad que también favorece la presencia de residuos en leche, aumentando las posibilidades de que las personas los ingieran, siendo un peligro para la salud, además de tener implicaciones tanto en los procesos tecnológicos como ecológicos. La repercusión que tienen los residuos antibióticos superiores a los límites permisibles en la leche cruda los convierte en un problema de salud pública que puede estar subdiagnosticado en nuestra región ya que no se han hecho estudios al respecto.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

Según Magariño Haroldo citando a la OEA en la actualidad no se conocen informes sobre intoxicaciones provocadas por antibióticos de uso común ingeridos a través de la leche y se explica porque sus concentraciones resultan ser muy bajas como para provocar un efecto tóxico, con la excepción, posiblemente, del cloranfenicol, que es capaz de producir, de acuerdo a algunos investigadores, anemia aplásica por depresión de la médula ósea, al suministrarse dosis bajas por períodos cortos de tiempo. No obstante lo anterior, subsiste la duda de si el consumo de antibióticos por el hombre, a través de alimentos contaminados, puede alcanzar niveles que determinen una toxicidad de tipo crónico, motivo más que suficiente para prohibir la presencia de éstos en los alimentos.¹

La constitución política de Colombia en el artículo 78 del capítulo III manifiesta que la ley regulará el control de calidad de bienes y servicios ofrecidos y prestados a la comunidad, además menciona que el estado responsabilizara de acuerdo con la ley aquellos que atenten contra la salud, seguridad y el adecuado aprovisionamiento a consumidores y usuarios.²

Teniendo en cuenta a Agrocadenas de Colombia, al Ministerio de Protección Social y Desarrollo rural e ICA³, las actuales normas de inocuidad en los alimentos que buscan una mejor calidad para el consumidor final, se debe orientar atención a productos de suma importancia dentro del mercado local. Según el observatorio Agrocadenas de Colombia en el país, durante el año 2004 se consumieron alrededor de 1'243.592.951 kilogramos de leche líquida, convirtiéndola en un producto de suma importancia para la población en general; por lo tanto es de suma importancia resaltar la necesidad del monitoreo constante de este producto de la canasta familiar.

¹ MAGARIÑOZ Haroldo. Contaminación de la leche por antibióticos. [en línea]. Pagina Web versión PDF, [fecha de consulta: 22 de enero 2007]. Disponible en Internet: <http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/26mar04/Higiene%20de%20la%20Leche.htm>

² REPUBLICA DE COLOMBIA. Constitución Política de Colombia. De los derechos colectivos y del ambiente. Segunda edición, Enero de 2004. 134p.

³ AGROCADENAS DE COLOMBIA, MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL, IICA, Estadísticas agroindustria láctea de Colombia. [en línea]. Pagina web versión Xls, [fecha de consulta: 7 de febrero 2007]. Disponible en Internet: www.agrocadenas.gov.co

Según el Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos del Codex Alimentarius⁴, se deben evitar leches “no idóneas”, es decir que estén dañadas, deterioradas o echadas a perder hasta el punto de dejar de ser aptas para el uso racional previsto; si contienen un agente biológico o químico, u otra materia o sustancia, que sean extraños a la naturaleza del alimento y hagan que la leche o los productos lácteos dejen de ser aptos para el uso racional previsto.

Con base al decreto numero 616 de 2006 se considera leche cruda a la que no ha sido sometida a ningún tipo de termización ni higienización y de acuerdo al artículo 14 “Teniendo en cuenta que la leche es considerada alimento de mayor riesgo en salud pública, queda prohibido: La comercialización de leche cruda o leche cruda enfriada para consumo humano directo.”

En el artículo 17 “CONDICIONES DE LA LECHE CRUDA. La leche cruda de los animales bovinos debe cumplir con las siguientes condiciones: No debe presentar residuos antibióticos en niveles superiores a los límites máximos permisibles determinados por la autoridad sanitaria competente de Acuerdo con la metodología que se adopte a nivel nacional.”⁵

Teniendo en cuenta esto, según Parra⁶, existen sustancias contaminantes como los antibióticos que pueden aparecer residualmente como resultado de: no respetar los tiempos de retiro de los medicamentos, uso de medicamentos no aprobados, sobre dosificación de medicamentos, aplicación de medicamentos sin recomendación del médico veterinario, administración de medicamentos por vías no recomendadas por los laboratorios fabricantes, mezcla con leches contaminadas entre otras.

⁴ CÓDIGO DE PRÁCTICAS DE HIGIENE PARA LA LECHE Y LOS PRODUCTOS LÁCTEOS CAC/RCP 57–2004. 4, 5p. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta 16 Febrero de 2007]. Disponible en internet: www.codexalimentarius.net/download/standards/10087/CXC_0572004s.pdf

⁵ REPUBLICA DE COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto numero 616 de 2006. [en línea]. Pagina Web versión HTML, [fecha de consulta: 16 de enero]. Disponible en Internet: <http://www.invima.gov.co/version1/normatividad/alimentos/decreto%20616%20de%202006.doc>

⁶ PARRA T. Maria Helena. Los residuos de medicamentos en la leche, problemática y estrategias para su control. Neiva (Colombia): CORPOICA-PRONATA, 2003. p. 39.

Esto es de vital importancia para salud pública ya que como lo menciona San Martín⁷, los antibióticos residuales en la leche pueden conllevar a problemas como: reacciones de hipersensibilidad, efectos tóxicos específicos, aparición de cepas resistentes y susceptibles de ser transmitidas al hombre y alteraciones de la flora intestinal.

Las consecuencias que tienen los residuos antibióticos por encima de los límites residuales máximos en la leche los convierte en un problema muy importante que puede estar afectando a nuestra región ya que no se han hecho estudios de investigación al respecto.

Según el Codex Alimentarius en su Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos del Codex Alimentarius se afirma que: “A lo largo de toda la cadena alimentaria se aplicarán buenas prácticas de higiene a fin de garantizar que la leche y los productos lácteos resulten inocuos e idóneos para el uso previsto”.

Además en este mismo código, se menciona dentro de las Funciones respectivas de los productores, fabricantes, distribuidores, minoristas, transportistas y consumidores de leche así como de las autoridades competentes, que aunque el fabricante tiene la responsabilidad de asegurar que los alimentos producidos sean inocuos e idóneos, es necesaria una cadena continua de medidas o controles aplicados por otras partes. Y además es importante reconocer que los distribuidores, las autoridades competentes y los consumidores también tienen un papel que desempeñar para asegurar la inocuidad e idoneidad de la leche y los productos lácteos.

Dentro del mismo código también se menciona que:

En el momento en que se presenta a los consumidores, la leche no debe contener ningún contaminante en un rango que ponga en peligro el nivel adecuado de protección de la salud pública, entendiéndose como contaminante a cualquier agente biológico o químico, materia extraña u otras sustancias no añadidas intencionalmente a los alimentos y que puedan comprometer la inocuidad o la aptitud de los alimentos.

⁷ SAN MARTÍN, N., BETTY. Residuos de antibióticos y sulfas en leche. TECNO VET; Año N° 3, diciembre de 1995. [en línea]. Pagina versión HTML. [fecha de consulta: febrero 16 2007]. Disponible en Internet: www.tecnovet.uchile.cl

El capítulo I del decreto número 616 de 2006 del Ministerio de la Protección social⁸, define a la leche higienizada como el producto obtenido al someter la leche cruda o la leche termizada a un proceso de pasteurización, ultra-alta-temperatura UAT (UHT), ultrapasteurización, esterilización para reducir la cantidad de microorganismos, u otros tratamientos que garanticen productos inocuos microbiológicamente. Adicionalmente en el Capítulo VI, artículo 32 del mismo decreto, se determina que la leche higienizada debe cumplir con ciertas condiciones especiales como lo son estar libre de adulterantes y conservantes y además que los niveles de sustancias tales como metales pesados, residuos de antibióticos o de otros medicamentos de uso veterinario, plaguicidas y aflatoxina M1, se deben regir por normas oficiales o en su defecto las normas internacionales del Codex Alimentarius (FAO-OMS).

⁸ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Op. cit, p. 27.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Actualmente en la ciudad de San Juan de Pasto no existe un control sobre la calidad de leche cruda que se comercializa a través de los diferentes establecimientos, y debido a las repercusiones de los residuos farmacológicos en la leche; se formula la siguiente pregunta: ¿cuál es la presencia de residuos de antibióticos β -lactámicos, en leche cruda expendida en la ciudad San Juan de Pasto en el periodo comprendido entre el 15 de octubre y el 15 de Noviembre de 2007?.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de residuos de antibióticos betalactámicos en leche cruda expendida en la ciudad de San Juan de Pasto mediante prueba de Delvotest® en el periodo comprendido entre el 15 de octubre y el 15 de Noviembre de 2007.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar el porcentaje de muestras positivas a residuos de antibióticos betalactámicos en la leche cruda analizada mediante la prueba de Delvotest®.
- Comparar los resultados obtenidos de cada muestra de leche de los 22 expendios teniendo en cuenta las características físicas y químicas de la leche cruda con los límites de calidad para cada parámetro.
- Evaluar la calidad higiénica de la leche evaluando presencia de bacterias por medio del método de Reductasa.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 LA LECHE

4. 1.1. Definición. La leche es un líquido segregado por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos, tras el nacimiento de la cría.

Es un líquido de composición compleja, blanco y opaco, de sabor dulce y reacción iónica (pH) arcana a la neutralidad.

La función natural de la leche es la de ser alimento exclusivo de los mamíferos jóvenes durante el periodo crítico de su existencia, tras el nacimiento, cuando el desarrollo es rápido y no puede ser sustituida por otros alimentos. La gran complejidad de la composición de la leche responde esta necesidad. La mama constituye igualmente un emuntorio; por ello se pueden encontrar también en la leche sustancias de eliminación, sin valor nutritivo.⁹

Según Parra, T. citando a la FAO: (Food and Agriculture Organization: Organización para la alimentación y agricultura), "La leche es el producto de la secreción mamaria, obtenida por uno o varios ordeños, sin adición o sustracción alguna. La misma autora citando a salud pública menciona que la leche es el producto integral del ordeño completo de vacas sanas, sin contenido de calostro"¹⁰.

Según Magariños: "la secreción láctea de las glándulas mamarias de los mamíferos es un líquido de composición compleja, de color blanquecino y opaco, con un pH cercano al neutro y de sabor dulce. Su propósito natural es la alimentación de la cría durante sus primeros meses de vida"¹¹.

Según el Ministerio de la Protección Social de Colombia: "la leche es el producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos, bufalinos y caprinos

⁹ ALAIS, Charles. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. CIA editorial continental, S.A de C.V., México. P 17- 235

¹⁰ FAO/OMS. Citado por PARRA Op. cit., p. 11.

¹¹ MAGARIÑOS, Haroldo. Op. cit, p. 26.

lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños completos, sin ningún tipo de adición, destinada al consumo en forma de leche líquida o para la elaboración posterior”¹².

4.1.2 Generalidades. La leche es un producto universal de origen animal que por su alto valor nutritivo y alto grado de digestibilidad es de suma importancia en la alimentación humana. Por esta razón control higiénico sanitario debe ser realizado en forma estricta por los organismos competentes.

4.1.2.1 Variabilidad de la composición la composición de la leche varía en el transcurso del ciclo de la lactación. En la época del nacimiento, la mama segrega el calostro, líquido que se diferencia de la leche principalmente en sus partes proteica y salina. El estado de salud influye sobre la composición de la leche (leches patológicas). La composición de la leche completa varía sensiblemente de una especie animal a otra.

4.1.2.2 Alterabilidad la leche es un producto que se altera muy fácilmente, especialmente bajo la acción del calor. Números microorganismos pueden proliferar en ella, en especial aquellos que degradan la lactosa con producción de ácido, ocasionando, como consecuencia, la floculación de una parte de las proteínas. La leche no posee más que una débil y efímera protección natural. Su uso para el consumo y para las transformaciones industriales exige medidas de defensa contra la invasión de los microbios y contra la actividad de las enzimas.¹³

¹² COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL DE COLOMBIA, Op. cit., p. 27.

¹³ ALAIS, Charles. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera, Op. cit., p. 32.

4.1.3 Composición nutricional de la leche de vaca

Tabla 1. Composición de la leche de vaca (por cada 100 gramos)

Nutriente	Valor
Agua, g	88.0
Energía, Kcal.	61.0
Proteína, g	3.2
Grasa, g	3.4
Lactosa, g	4.7
Minerales, g	0.72

Fuente: Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera, Universidad de Wisconsin-Madison.

4.1.3.1 Agua la leche es una mezcla compleja de distintas sustancias, que se encuentran unas en suspensión y emulsión, otras en forma de soluciones verdaderas. El agua es en este sistema la fase dispersante, en la cual los glóbulos grasos y los demás componentes de mayor tamaño se encuentran emulsionados o suspendidos. Las sustancias proteicas se encuentran formando coloides (caseína, globulina) o liófilo (albúmina), mientras que la lactosa y las sales se hallan en solución verdadera.

4.1.3.2 Proteína constituida por una mezcla de numerosas fracciones proteicas diferentes y de pesos moleculares distintos. La proteína característica de la leche es la caseína, además de la cual se encuentran albúmina y globulina.

El color blanco típico de la leche se debe a la insolubilidad de las partículas de caseína, que se encuentran formando una suspensión estable.

La albúmina es la proteína de la leche que sigue en cantidad a la caseína. Mientras que la caseína es relativamente estable a la acción del calor, las albúminas de la leche se desnaturalizan con bastante facilidad al calentarlas.

Las globulinas de la leche son proteínas de alto peso molecular que se encuentran preformadas en la sangre. Su presencia, por desempeñar función de anticuerpos, revisten gran importancia como sustancias protectoras adquiridas por el recién nacido con su alimento.

Las proteínas en general entran en la formación del tejido óseo y muscular.

4.1.3.3 Grasa su porcentaje es de 3.7%, los glóbulos grasos pequeños y se pueden calcular que en 1cc de leche hay varios miles de millones de glóbulos grasos. El escaso peso específico de la grasa motiva su ascensión y acúmulo en la superficie de la leche, en la que forma la llamada “nata”. La grasa puede alterarse por acción de la luz, el oxígeno y enzimas, ocasionando alteraciones de sabor, que se hace aceitoso, sebáceo o rancio.

4.1.3.4 Hidratos de carbono la fracción hidrocarbonada de la leche se compone casi exclusivamente de azúcar de leche o lactosa, es un disacárido que se puede desdoblar en glucosa y galactosa. Su poder edulcorante es menor que el de la sacarosa, por lo cual la leche no es dulce.

El valor dietético de la lactosa se basa en una suave acción laxante. Contribuye a la formación de energía y grasa. Si la leche se somete a altas temperaturas sin el debido control, la lactosa se quema y toma una coloración marrón. Si la temperatura es demasiado alta dicha tonalidad se aumenta y la lactosa se acaramela por completo transmitiendo el sabor a sus diferentes compuestos.

4.1.3.5 Minerales (cenizas) las sales minerales contenidas en la leche resultan de gran valor para el organismo joven y en crecimiento por estar constituidas por una mezcla bien equilibrada de distintos componentes, pero sobretodo por su fácil absorción. Los minerales entran en la composición de huesos y dientes. Se encuentran en la membrana de los glóbulos grasos en mayor concentración el calcio, cobre, cobalto, hierro, manganeso, fósforo, zinc, sodio, fluoruros, cloruros y yoduros. Además de los elementos mencionados, se reconoce la presencia de otros en cantidades vestigiales, como el aluminio, molibdeno y plata.

4.1.3.6 Vitaminas como alimento se debe proporcionar al recién nacido los factores más importantes para su desarrollo, la leche contiene una gran riqueza vitamínica; la que está sujeta a grandes oscilaciones. Estas vitaminas son: A, D, E, C, K complejo B (B1, B2, B6, B12), nicotinamida, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico.

4.1.3.7 Acidez la leche tiene cierto grado de acidez que es normal y se lo denomina acidez NATURAL, formada por las proteínas, lactosa y sustancias fosforadas, que debe diferenciarse de la acidez DESARROLLADA, que se debe aparición de ácido láctico por transformación de la lactosa bajo la acción de

microorganismos (estreptococos lactis, thermophilus, lactobacilos lactis, helveticus, acidophilus) también por gérmenes coniformes, levaduras. Etc.

4.1.3.8 Células como todos los demás productos de secreción de un organismo vivo, la leche también contiene células de diferentes clases y en número variable. Como: leucocitos, eritrocitos, monolitos, linfocitos, granulocitos.

4.1.3.9 pH el grado de disociación de las moléculas de una solución; como cationes (+) o aniones (-), se expresa bajo el signo pH, que significa la acidez real o concentración de iones OH, pues el pH es un logaritmo a la inversa de la concentración de iones de hidrógeno.

4.1.3.10 Enzimas las enzimas son sustancias orgánicas complejas de naturaleza proteica, capaces de iniciar reacciones químicas y que permanecen sin cambiar una vez que ha ocurrido su acción. La acción de las enzimas es específica, por ejemplo, las lipasas actúan solamente sobre la grasa, las proteasas sobre las proteínas. Además, las enzimas tienen un pH y temperatura óptima de acción. Así, por ejemplo, el cuajo usado en la elaboración de quesos es una enzima que tiene una temperatura óptima de acción en los 40-42°C.

Algunas enzimas de la leche son:

- **Lipasa.** Es una enzima de que produce la hidrólisis de la grasa y es una de las causas responsables del sabor rancio en la leche, producido por la liberación de ácido butírico. La lipasa original de la leche es termosensible. Se destruye con pasteurización a baja temperatura, mientras que las lipasa producidas por diferentes bacterias (Pseudomona, alcaligenes y bacilus especialmente), son bastante termoresistentes y se destruyen solamente con pasteurización a alta temperatura. Por esta razón es muy importante que los recuentos de microorganismos en la leche cruda se mantengan tan bajos como sea posible.
- **Peroxidasa.** Es una enzima oxidante, capaz se liberar oxígeno del peróxido de hidrógeno. Ella se destruye a temperaturas superiores a las usadas en la pasteurización.
- **Catalasa.** Esta enzima reacciona con el agua oxigenada o peróxido de hidrógeno liberando agua y oxígeno. Los leucocitos poseen catalasa lo que ha sido aprovechado para detectar leches mastíticas mediante pruebas que usan agua oxigenada.

- **Fosfatasa.** Es ampliamente usada en la industria para controlar la pasteurización de la leche y se basa en la liberación del fenol de compuestos fosforados. el fenilfosfatodisódico en presencia de fosfatasa libera fenol, que es detectado mediante reacciones coloriméticas.¹⁴

Sobre la composición química de la leche Closa, S, Landeta, A. y Cufre, J.¹⁵, mencionan que la leche de vaca contiene en promedio, alrededor de 7 gramos de minerales por litro. En donde la distribución y concentración de estos elementos en la mezcla de fases en equilibrio que la constituyen, difiere de acuerdo al elemento de que se trate. En la fase acuosa se encuentran disueltas con lactosa y compuestos nitrogenados solubles, sales minerales u orgánicas como citratos, fosfatos y cloruros de calcio, potasio, magnesio, sodio y trazas de hierro. En la fase coloidal se pueden encontrar suspendidas micelas de caseína insoluble que contienen aproximadamente un 20 % del calcio y fósforo unidos a su estructura y sales compuestas de fosfato de calcio coloidal, citratos y magnesio en proporciones fijas, que contribuyen a estabilizar las micelas. Los glóbulos de grasa emulsionados contienen un 1% de fosfolípidos y en sus membranas se fijan Fe, Cu, Zn y MN. Más de la mitad del Fe y alrededor del 80% del zinc y cobre se fijan a micelas de caseína y entre el 15 al 30% del hierro, zinc y cobre se unen a las proteínas solubles. Las α -lacto albúminas contienen un átomo de calcio por molécula.

La leche de alta calidad debe poseer las siguientes características:

1. Estar libre de todo organismo patógeno.
2. Estar libre de sedimentos y materias totales.
3. Tener un ligero sabor dulce, un gusto y aroma suave, estar libre de olores extraños.

¹⁴ RICO E, Guillermo. Higiene de la leche. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá p 13-67.

¹⁵ CLOSA, Sara Josefina, DE LANDETA María C, ANDÉRICA, Daniel, PIGHÍN, Andrés CUFRE, Juan A. Contenido de nutrientes minerales en leches de vaca y derivados de Argentina. Archivos latinoamericanos de nutrición. Departamento de Tecnología. Universidad Nacional de Luján. Argentina. [en línea]. Pagina versión HTML. [fecha de consulta febrero 16]. Disponible en Internet: <http://www2.scielo.org.ve/scielo.php>.

4. Cumplir con los requisitos estatales.

Tabla.2 Propiedades fisicoquímicas generales de la leche entera

Leche	Proteínas (%)	Grasas (%)	Sólidos no grasos (%)	Densidad
Entera	3,3	3,7	9.10	1,030 y 1,033 a la temperatura de 15°

Fuente:http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/aprender_a_comer_bien/guia_alimentos/leche_y_derivados/2001/08/06/38377.php

4.1. 4 Leche cruda. El Ministerio de la Protección Social de Colombia define a la leche cruda:

Leche que no ha sufrido ningún proceso de higienización, con las características fisicoquímicas y organolépticas, propias del producto.¹⁶

- **Composición físico química de la leche cruda.** En cuanto a la composición físico química de la leche el Ministerio de la Protección Social de Colombia en el Artículo 16 del Capítulo V, correspondiente al Decreto 616 del 2006, determina las características físico químicas de la leche cruda así:

Cuadro 1. Características fisicoquímicas de la leche cruda

Parámetro/Unidad	Leche Cruda
Grasa % m/v mínimo	3.00
Extracto seco total % m/m mínimo	11.30
Extracto seco desengrasado % m/m mínimo	8.30

¹⁶ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Op., cit. p. 27.

	Min.	Max.
Densidad 15/15°C g/ml	1.030	1.033
Índice lactométrico	8.40	
Acidez expresado como ácido láctico % m/v	0.13	0.17
Índice °C crioscópico °H	-0.530	-0.510
	-0.550	-0.530

Fuente. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL DE COLOMBIA. Decreto 616 del 2006, Título II, Capítulo V, Artículo 16, Tabla 2

4.1.5 Condiciones de la leche cruda. La leche cruda de los animales bovino debe cumplir con las siguientes condiciones:

- Cuando es materia prima para leche UHT o ultrapasteurizada debe presentar estabilidad proteica en presencia de alcohol al 78% v/v.
- Debe presentar estabilidad proteica en presencia de alcohol 68% m/m o 75% v/v.
- No debe presentar residuos de antibióticos en niveles superiores a los límites máximos permisibles determinados por la autoridad competente de acuerdo con la metodología que se adopte a nivel nacional¹⁷.

4.1.6 Prohibiciones para la leche cruda. De acuerdo decreto 2838 de 24 de agosto de 2006; por el cual se modifica parcialmente el decreto 616 de 2006 en el capítulo II nombre las excepciones par la comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada:

- Artículo 2. Después de dos años de La adición de lactosueros a la leche en todas las etapas de la cadena productiva.

¹⁷ . MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL DE COLOMBIA. Op. cit, p. 27.

- Artículo 3. *plan de reconversión*. Para el cumplimiento de lo establecido todo comercializador de leche cruda y de leche cruda enfriada, deberá presentar dentro de los seis (6) meses siguientes a la expedición de este decreto, ante la alcaldía de su jurisdicción un plan de reconversión conforme a la guía técnica que para el efecto expidan los Ministerios de Agricultura y Desarrollo rural y de la Protección Social.

Corresponde a las secretarías de Salud y de Agricultura de las entidades territoriales, o quien haga sus veces, de acuerdo con sus competencias, realizar el seguimiento a la aplicación de la presente disposición.

Parágrafo. Los comercializadores de leche cruda o leche cruda enfriada para consumo humano directo que se ajusten a lo establecido en el artículo 3 del capítulo II del decreto 2838, dentro de los seis (6) meses siguientes a la expedición del decreto no podrán comercializar el producto en el territorio nacional.

- Artículo 4. *zonas especiales para la comercialización de leche cruda o leche cruda enfriada para consumo humano directo*. A partir de la vigencia del decreto 2838 de 24 de Agosto de 2006 se podrá autorizar excepcionalmente la comercialización de leche cruda en aquellas zonas del país que por sus condiciones de accesibilidad geográfica y disponibilidad no pueden comercializar leche higienizada.

Corresponde al Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, Invima, y al Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, estudiar y autorizar las zonas especiales de comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo, previa solicitud del alcalde municipal, conforme a la reglamentación que para el efecto expidan los Ministerios de Agricultura y desarrollo rural y de la Protección social. Para la autorización de las zonas especiales de comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo, se tendrán en cuenta los siguientes requisitos tendientes a reducir el riesgo para la salud del consumidor:

- Estar ubicadas en zonas aisladas o de difícil acceso.
- Población a abastecer.

- Disponibilidad alimentaria. Desarrollar los programas sanitarios y de inocuidad que determine el Instituto Colombiano Agropecuario ICA, para la vigilancia de brucelosis y tuberculosis¹⁸.

4.1.7 Especificaciones técnicas de la leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo en las excepciones contempladas en el decreto 2838.

- *Artículo 5° comercialización de leche cruda para consumo humano directo.* La leche cruda para consumo humano directo deberá comercializarse en un tiempo no superior a las ocho (8) horas transcurridas a partir del momento de su ordeño.
- *Artículo 6° comercialización de leche cruda enfriada para consumo humano directo.* La leche cruda enfriada para consumo humano directo deberá comercializarse en un tiempo no superior a las veinticuatro (24) horas transcurridas a partir del momento de su ordeño.
- *Artículo 7° requisitos para la comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada.* Todo comercializador de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo deberá cumplir con los siguientes requisitos:
 - a. Estar registrados y autorizados por las autoridades sanitarias de los departamentos, distritos o municipios, según las competencias establecidas en los artículos 43, 44 Y 45 de la Ley 715 de 2001, como comercializador de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo.
 - b. Cumplir en lo pertinente con las condiciones higiénico-sanitarias establecidas en el Decreto 3075 de 1997.
- *Artículo 8° equipos y utensilios* Los equipos y utensilios que en el proceso de comercialización entran en contacto directo con la leche cruda y la leche cruda

¹⁸ REPUBLICA DE COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL. Decreto 2838 del 2006, Capítulo II. [en línea]. Pagina Web versión HTML, [fecha de consulta: 16 de enero]. Disponible en Internet: <http://www.invima.gov.co/version1/normatividad/alimentos/decreto%20616%20de%202006.doc>

enfriada para consumo humano directo, deben cumplir con los siguientes requisitos:

- a. Estar fabricados con materiales resistentes al uso y a la corrosión, así como a la utilización frecuente de los agentes de limpieza y desinfección.
 - b. Los utensilios y superficies deben poseer un acabado liso, no poroso, no absorbente, estar libres de defectos, grietas, intersticios u otras irregularidades, y no deben recubrirse con pinturas u otro tipo de material que represente un riesgo para la inocuidad de la leche.
 - c. Todas las superficies de contacto con la leche cruda o leche cruda enfriada deben ser inertes, bajo las condiciones de uso previstas, de manera que no exista interacción entre éstas o de éstas con la leche cruda o leche cruda enfriada.
 - d. En los espacios interiores de contacto directo con la leche cruda y leche cruda enfriada, los equipos no deben poseer piezas o accesorios que requieran lubricación o roscas de acoplamiento u otras conexiones peligrosas.
- *Artículo 9º salud del manipulador.* Todo manipulador o comercializador de leche cruda y de leche cruda enfriada deberá:
 - a. Poseer un certificado médico que reconozca su aptitud para manipular a leche, el cual tendrá vigencia por un año.
 - b. Mantener la higiene personal y los buenos hábitos higiénicos.
 - c. Estar libre de lesiones en la piel y síntomas de afecciones respiratorias.
 - *Artículo 10º procedencia de la leche.* La leche cruda y leche cruda enfriada que se comercialice para consumo humano directo, deberá proceder de ganaderías inscritas en programas de saneamiento establecidas por el Instituto Colombiano Agropecuario - ICA, las cuales han cumplido con procesos de vigilancia epidemiológica de brucelosis y tuberculosis bovina. Estos procesos serán reglamentados por el ICA a través de resolución.

- *Artículo 12.- características microbiológicas de la leche cruda y de leche cruda enfriada.* La leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo deberá cumplir con los siguientes requisitos microbiológicos:¹⁹

Tabla.3 Requisitos microbiológicos de la leche.

Índice permisible	Unidades
Recuento de mesó filos aerobios ufc/ml	700.000

Fuente: MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL DE COLOMBIA. Decreto 2838 2006, Capítulo III, Artículo 12, Tabla 1.

4.1.8 Contaminantes de la leche. Magariños, H²⁰. afirma que: la leche es la fuente de alimento que constituye un principio nutritivo que no puede ser superado por ningún otro alimento; sin embargo estas cualidades están sometidas a riesgos como la contaminación y multiplicación de microorganismos, contaminación con gérmenes patógenos, alteración físico-química de sus componentes, absorción de olores extraños, generación de malos sabores y contaminación con sustancias químicas, partículas de suciedad entre otros que finalmente hacen peligrar la calidad higiénica y nutricional original de la leche y consecuentemente conspiran en contra de la salud pública y la economía de cualquier empresa.

- **Sustancias extrañas en la leche.** Rico, G²¹ Afirma que a pesar de que la mayor parte de las legislaciones lecheras no permiten añadir ninguna sustancia a la leche y es rigurosa en relación con la adición de sustancias inocuas, en la práctica para que la leche y especialmente sus derivados puedan contener sustancias extrañas agregadas en forma voluntaria para prevenir problemas tecnológicos y de mercado.

En estos casos suelen agregar colorantes, sustancias antibacterianas, antioxidantes, dulcificadores, emulsiones, estabilizantes y aromatizantes.

¹⁹ REPUBLICA DE COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL. Op., Cit. P. 41

²⁰ MAGARIÑOS. H. Op., cit. p. 26.

²¹ RICO, G. Op., Cit. P. 37.

También se presenta casos de adición involuntaria de sustancias a la leche, tales como residuos de insecticidas, sustancias radioactivas, desinfectantes, antibióticos.

- **Sustancias antibactericas.** Conocidas también como sustancias “conservadoras” son aquellas agregadas a la leche que inhiben, retardan, enmascaran el proceso de fermentación, acidificación, putrefacción y descomposición en general de la leche o de cualquier sustancia alimenticia.

La legislación prohíbe la adición de cualquiera de éstas sustancias a la leche o a sus derivados. (H₂O₂, formalina, ácido bórico, bórax, ácido benzoico, todos estos preparados afectan la salud del consumidor).

- **Sustancias antioxidantes.** No es muy recomendable el empleo de sustancias antioxidantes para las leches y las grasas, pero en algunos países se permite el uso del ácido ascórbico y sus sales, ácido iso-ascórbico y sus sales, palmitato de ascorbil, ácido tartárico y sus sales, tocoferol. La proporción de éstos compuestos es variable de acuerdo con la naturaleza de cada uno de ellos.
- **Sustancias insecticidas.** Hace referencia a insecticidas, pesticidas y matamalezas.

Cuando alguna de estas sustancias es rociada en el establo, pequeñas gotas caen sobre la piel del animal de los animales o los utensilios, a través de la piel el animal absorbe las sustancias y en el caso de las vacas, después la eliminan en leche; a través de los utensilios puede haber una contaminación directa a la leche. El empleo de estas sustancias en el establo, planta lechera, venta directa, pueden ocasionar un grave problema, por consiguiente debe actuarse con mucho cuidado para evitar contaminaciones.

- **Sustancias desinfectantes.** Las más comunes y frecuentes con el cloro (en forma de hipoclorito) y los derivados de amonio cuaternario.

4.2. LOS ANTIBIÓTICOS

4.2.1. Definición. Según afirma Parra T: Los antibióticos son sustancias producidas por microorganismos o plantas superiores de composición química muy diversa. El concepto central de la acción antibiótica es la toxicidad selectiva, esto es, inhibición selectiva o destrucción del crecimiento del microorganismo patógeno, sin alterar a las células del hospedador. El antibiótico ideal no debería tener ningún efecto indeseable sobre el paciente, solo debería ser letal para el microorganismo patógeno²².

En cuanto a la definición Restrepo afirma, “Un antibiótico se define como una sustancia producida por diferentes microorganismos que suprimen la proliferación o destruyen otros gérmenes. Un quimioterápico [o quimioterapéutico], es una sustancia sintética que suprime o destruye los gérmenes”²³.

4.2.2 Clasificación por mecanismo de acción. Según Cué y Morejón los antibióticos se clasifican teniendo en cuenta su mecanismo de acción así: Según el efecto de su acción sobre las bacterias, los antibióticos se clasifican en bacteriostáticos y bactericidas, y depende de si la acción consiste en inhibir el crecimiento o lisis la bacteria, respectivamente.

Esta clasificación es bastante inexacta, pues estos términos varían en dependencia del tipo de germen y de la concentración del antibiótico, como es por ejemplo, el caso del cloramfenicol que se comporta como bacteriostático frente a la *E. coli* y otros microorganismos y como bactericida frente a algunas cepas de *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* y *H. influenzae*. Similar es el caso de la penicilina, la cual es bactericida frente a los cocos grampositivos, con excepción de los enterococos frente a los cuales se comporta como bacteriostático debido a que, a pesar de inhibir la formación de la pared bacteriana, no activa las enzimas autolíticas intrabacterianas; así como frente al *S. pneumoniae*, por un fenómeno de tolerancia, cuando la sepsis es respiratoria, se comporta como bactericida y, sin embargo, cuando es en el sistema nervioso central actúa como bacteriostático,

²² PARRA T. Op., cit. p. 30.

²³ RESTREPO SALAZAR, Juan Gonzalo. Terapéutica veterinaria. Medellín, Colombia. 2006. p. 42.

debido a que no se puede lograr a ese nivel una concentración bactericida superior a la concentración inhibitoria mínima²⁴.

Respecto a la clasificación Restrepo²⁵, menciona que la más aceptada de acuerdo con el mecanismo de acción es la siguiente:

1. Agentes que alteran la síntesis de la pared bacteriana. En los que encontramos a los β -lactámicos (penicilinas y cefalosporinas); Los monobactámicos (imipenem, aztreonam); Glucopéptidos (vancomicina).
2. Agentes que alteran la permeabilidad de la membrana celular del microorganismo: anfotericina B y polimixina.
3. Agentes que alteran parcialmente la síntesis de proteínas del microorganismo. En donde podemos nombrar a los fenicoles (cloranfenicol y florfenicol); tetraciclinas (oxitetraciclina y tetraciclina); Macrólidos (tilosina y eritromicina); Lincosánidos (clindamicina y lincosamina).
4. Agentes que alteran completamente la síntesis de proteínas del microorganismo: aminoglicósidos (estreptomina y gentamicina).
5. Agentes que alteran la acción de los ácidos nucleicos, entre los que podemos mencionar a las quinolonas (enrofloxacina y ciprofloxacina); novobiocina; rifampicinas; nitrofuranos; nitroimidazoles.
6. Agentes que alteran la vía metabólica del ácido fólico. En donde tenemos a trimetoprim; sulfonamidas; combinación de trimetoprim con sulfas.

4.2.3 Principios de la antibiòticoterapia. De acuerdo a Botana: Los principios de la terapia antibiòtica, incluyendo el diseño de regímenes racionales de dosificación, se basan en un triángulo terapéutico que incluye las relaciones entre

²⁴ CUÉ BRUGUERAS, Manuel y MOREJÓN GARCÍA Moisés. Antibacterianos de acción sistémica. Parte I. antibiòticos β -lactámicos. p. 3. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 1, 2007]. Disponible en Internet: <http://scielo.sld.cu/pdf/mgi/v14n4/mgi08498.pdf>

²⁵ RESTREPO SALAZAR. Op., cit. p. 45.

la bacteria responsable de la infección, el huésped animal enfermo y el fármaco utilizado para tratar la infección²⁶.

El mismo autor afirma que: Una vez tomada la decisión, sobre bases fundamentadas, de que la terapia es necesaria, el problema siguiente a resolver es decidir cuál es el fármaco apropiado, a qué dosis debería ser administrado, en que formulación, por qué vía y durante cuánto tiempo.

Para la elección del fármaco y su dosis, el clínico debe equilibrar cuidadosamente los efectos buscados y los efectos indeseables del agente seleccionado. El objetivo fundamental de la terapia es proveer una concentración de fármaco efectiva en el sitio de infección durante un tiempo suficiente para obtener una cura tanto clínica como bacteriológica, evitando al mismo tiempo, tanto como sea posible, la aparición de efectos indeseables²⁷.

Restrepo, hablando de la terapia racional con los antibacterianos, afirma que: Para una terapia racional con antibacterianos, es importante tener un buen diagnóstico, conocer sobre la resistencia o susceptibilidad del microorganismo, conocer sobre las reacciones adversas y toxicidad del medicamento y los costos del mismo. Sin embargo y en la especie que lo permita, debemos tratar de individualizar el tratamiento con base a tres elementos fundamentales:

El conocimiento del agente causante de la infección (se debe identificar, conocer su epidemiología y saber si es susceptible o resistente al medicamento).
El conocimiento del animal que sufre la infección (las características fisiopatológicas).

El conocimiento del medicamento a usar (conocer su farmacocinética, farmacodinamia y espectro)²⁸.

²⁶ BOTANA LÓPEZ, Luís M., Farmacología y terapéutica veterinaria. Madrid, España. 2002. p. 493.

²⁷ Ibid. p. 46.

²⁸ RESTREPO SALAZAR. Op., cit. p. 46.

4.2.4 Problemática del empleo de antimicrobianos. Como afirma Fabre J²⁹., Los antibióticos se han usado en la producción animal como tratamiento y prevención de enfermedades, así como promotor de crecimiento por alrededor de 50 años. La penicilina G fue el primer antibiótico introducido a la medicina veterinaria en 1947 para ser usado en infusiones intramamarias. Desde entonces el uso de los antibióticos se ha convertido en parte integral del manejo de la salud animal en la agricultura.

Poco tiempo después del descubrimiento de los antibióticos, se dedujo que estos últimos podían tener consecuencias tanto en el procesamiento de la leche, como en la salud humana. Al principio, algunos países propusieron la ausencia de residuos detectables de antibióticos. Algunos textos europeos presentaron así el concepto de ausencia de residuos, pero colocaron un límite de 5 partes por billón (ppb), para penicilina en leche. El límite máximo de residuos (MRL) es la concentración máxima de residuos en un producto (leche, carne, huevos), considerada por las autoridades como libre de riesgo sanitario para el consumidor y sin afectar los procesos de manufactura. Este límite no debe ser excedido para alimentos de origen animal.

A continuación se muestra el cuadro 2 que nos indica el MRL permitido por el Códex Alimentarius en Estados Unidos.

Tomando en cuenta lo que afirman Mitchell y Norris³⁰, los antibióticos más comúnmente utilizados en los animales de granja pueden ser agrupados en 5 clases. Estas incluyen a los Beta-Lactámicos (por ejemplo penicilinas y cefalosporinas), tetraciclinas (oxitetraciclina, tetraciclina, y clortetraciclina), aminoglicósidos (estreptomina y gentamicina), macrólidos (eritromicina, tilosina) y sulfonamidas (sulfametazina). Un estudio reciente de veterinarios de Estados Unidos reveló que los antibióticos eran las drogas mas a menudo prescritas para las vacas lactantes y la penicilina G era el antibiótico mas empleado, y excepto por la oxitetraciclina, las cinco drogas mas prescritas eran los Beta-Lactámicos aprobados: penicilina G, ceftiofur sódico, cloxacilina, cefapirina y ampicilina.

²⁹ FABRE J.M. 3.2 Maximum residue limit. 2006. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/static/delvotest/downloads/LesRisquesDeResidus_extrait2_En.pdf

³⁰ MITCHELL MARK, NORRIS BRENDA. Testing goat milk for antibiotic residues. Ontario Ministry of agriculture, food and rural affairs. 2005. [En línea]. Pagina web versión HTML. [fecha de consulta: 16 de Febrero 2007]. Disponible en Internet: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/goat/news/dgg0510a4.htm>

- **Efectos secundarios de los antimicrobianos.** Respecto a esto Botana expresa que: Por lo que concierne a los efectos indeseables, existen diferentes preocupaciones relacionadas con: a) los efectos tóxicos dependientes de las dosis sobre las células y los tejidos del huésped; b) la toxicidad idiosincrásica, que es impredecible; c) aquellos efectos adversos que surgen en situaciones especiales, entre ellos por interacción con otros fármacos, en animales viejos o con enfermedades preexistentes (renales, hepáticas); d) la posible aparición de fenómenos de tipo alérgico con la posibilidad de reacciones de tipo anafiláctico en los animales tratados; e) la promoción de resistencia a los antimicrobianos; f) la interferencia en la microflora normal del huésped; y g) la aparición de residuos en tejidos comestibles de los animales para consumo³¹.
- **Farmacocinética de los antibióticos en la glándula mamaria.** En cuanto al comportamiento de los antibióticos en la glándula mamaria Tornadijo, Marra, García, Prieto y Carballo, mencionan que, "El paso de restos a la leche es endógeno; se ha comprobado que la mayor parte de los preparados farmacológicos administrados a las hembras lactantes se segregan con la leche. La cuantía del paso es variable y la duración de la secreción depende del tipo de principio y de la vía de administración"³².

Respecto a este tema Magariños menciona que:

Cuando se introduce un antibiótico en la ubre, éste se distribuye en el tejido mamario por los conductos galactóforos y es transferido al torrente sanguíneo por un mecanismo físico químico que depende del valor de pKa (valor de disociación) del preparado, valor de pH del plasma sanguíneo, proteína ligada al antibiótico y valor de pH de la leche. Debido a esto, la reabsorción del producto es muy variable de acuerdo al preparado y al animal.

De la dosis administrada a la glándula mamaria, una parte es absorbida pasando al torrente sanguíneo, otra es inactivada por la leche y los productos generados por la infección y el resto, que es la mayor parte, es excretada a la leche durante los ordeños posteriores. Existe una correlación negativa entre el tiempo de

³¹ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 46.

³² TORNADIJO, M. MARRA, A. FONTÁN, M. PRIETO y CARBALLO, J. La calidad de la leche destinada a la fabricación de queso: calidad química. p. 2. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 1 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/2654/page18d.htm>

eliminación del antibiótico y el volumen de leche producido por el animal. Los animales de baja producción demoran en excretar el preparado, principalmente por la mala absorción y secreción de los cuartos afectados. El ordeño frecuente aumenta el efecto de dilución y por lo tanto acorta el tiempo de eliminación del antibiótico.

Por otra parte, no sólo la leche de los cuartos tratados es la que se contamina. Se ha podido comprobar, en algunos casos, actividad antibiótica en los cuartos vecinos no tratados, actividad que permanece, por lo general, durante un período de tiempo igual a la mitad del observado para los tratados. Es posible que esta situación se produzca por difusión pasiva entre la sangre y la leche y también por difusión directa entre los tejidos mamarios.

Debido a que los antibióticos de aplicación intramamaria son de fácil aplicación y generalmente baratos, dado que usualmente no se consulta al médico veterinario para su aplicación, se han hecho muy populares en las explotaciones lecheras y la consecuencia inmediata de esto es su reconocimiento como la principal causa de aparición de residuos de antibióticos en la leche³³.

En cuanto a los factores que afectan la excreción mamaria de los antibióticos, Parra T., menciona y describe a los siguientes:

El principio activo: las sales benzatínicas de las penicilinas se eliminan por más tiempo (pueden eliminarse hasta por 20 a 30 días en la leche), que las sales sódicas. En los EEUU, la Food and Drug Administration (FDA), no aprueba ninguna penicilina benzatínica, ni para uso inyectable, ni de aplicación intramamaria en vacas lactantes.

El excipiente: los antibióticos en vehículo acuoso se eliminan más rápido que los de vehículo oleoso. Una penicilina procaínica en vehículo oleoso, tendrá una duración de excreción de 125%, mayor que la misma penicilina en medio acuoso.

La dosis: para una penicilina procaínica, una aplicación intramuscular que pase de 3 a 6 millones de UI, incrementa la excreción en 33%.

³³ MAGARIÑOS, Harnoldo. Op., cit. p. 26.

La vía de administración: la administración mamaria tiene una duración de excreción mayor que la vía intramuscular. Los antibióticos aplicados vía intramamaria se eliminan por los 4 cuartos mamarios.

Existen algunos reportes de que 61% de los casos positivos a residuos en leche, se deben al uso de antibióticos intramamarios, en mastitis clínicas; 31% a tratamientos intramamarios en período fuera de lactancia (tratamientos para vaca seca); 6% a inyectables, y 1% a otras causas.

Igualmente, las aplicaciones de antibióticos intrauterinos, producen residuos en la leche. La administración vía oral, puede generar residuos dependiendo del metabolismo del antibiótico, y de su absorción por la mucosa intestinal.

La duración del tratamiento: siempre el tiempo de retiro para los antibióticos y demás medicamentos, debe ser durante, y con base en el último tratamiento³⁴.

4.2.5 Antibióticos β -lactámicos. De acuerdo con la página de Internet Wikipedia³⁵, se define a los antibióticos β -lactámicos como antibióticos de amplio espectro, en los que se incluyen los derivados de la penicilina, y las cefalosporinas además de todos los compuestos que contengan un núcleo β -lactámico en su estructura molecular. Se menciona también que son el grupo de antibióticos disponible más ampliamente usado.

- **Características generales.** En cuanto a las características generales Botana afirma que:

Es uno de los grupos mejor conocidos y ampliamente utilizados tanto en medicina humana como veterinaria. Su utilidad y popularidad se debe a su escasa toxicidad, alta eficacia (aunque algunos de los miembros de este grupo carecen frente a bacterias resistentes), bajo costo y disponibilidad de una amplia gama de formas farmacéuticas. También se debe a que la penicilina, abanderado de este grupo, fue el primer antibiótico descubierto y manufacturado comercialmente³⁶.

³⁴ PARRA T. Op., cit. 38-39.

³⁵ WIKIPEDIA, The free encyclopedia. Beta-lactam antibiotic. [En línea]. Pagina web versión HTML. [fecha de consulta: septiembre 18 de 2007]. Disponible en Internet: http://en.wikipedia.org/wiki/Beta-lactam_antibiotic

³⁶ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 455.

Hablando de la estructura química característica de los β -láctamicos, Marín y Gudiol mencionan que, “La presencia de un anillo betalactámico define químicamente a esta familia de antibióticos, de la que se han originado diversos grupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas, monobactamas e inhibidores de las β -lactamasas”³⁷.

En cuanto a la estructura química Botana explica, “La estructura química general de las penicilinas está compuesta por un anillo de tiazolidina de 5 átomos de carbono unido al grupo activo β -lactámico. Las cefalosporinas se desarrollan a partir de un anillo de dihidrotiazina de 6 átomos de carbono. Los monobatámicos poseen un solo anillo”³⁸.

- **Mecanismo de acción.** En cuanto al mecanismo de acción de los β -láctamicos, Marín y Gudiol afirman que:

Los antibióticos β -lactámicos son agentes bactericidas que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen además un efecto autolítico. La destrucción de la pared celular bacteriana se produce como consecuencia de la inhibición de la última etapa de la síntesis del peptidoglucano. En las bacterias grampositivas, la pared celular es gruesa y su componente principal es dicha proteína. Las bacterias gramnegativas tienen una pared más fina y compleja que consta de una membrana externa formada por lípidos y proteínas y de una delgada capa interna de peptidoglucano. Las bacterias ácido-alcohol resistentes tienen una pared similar a la de los microorganismos grampositivos, pero con una capa de peptidoglucano fina y, por fuera, una capa muy rica en lípidos.

El peptidoglucano está constituido por largas cadenas de glúcidos (-glucano), formadas por la repetición de moléculas de ácido *N*-acetilmurámico y *N*-acetilglucosamina. El ácido murámico fija cadenas de tetrapéptidos (péptido-) que se unen entre sí para formar una malla, bien directamente (gramnegativos) o mediante un pentapéptido de glicina (grampositivos). Los β -lactámicos inhiben precisamente esta unión o transpeptidación, última etapa de la síntesis de la pared celular. De este modo, la pared queda debilitada y puede romperse por la presión

³⁷ MARÍN, Mar, GUDIOL, Francesc. Antibióticos β -lactámicos. p. 1. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 1 de 2007]. Disponible en Internet: http://external.doyma.es/espacioformacion/eimc/eimc_docs/28v21n01a13042137pdf001.pdf

³⁸ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 456.

osmótica intracelular. Para que actúen los β -lactámicos es necesario que la bacteria se halle en fase de multiplicación, ya que es cuando se sintetiza la pared celular³⁹.

En cuanto al mecanismo de acción Botana también menciona que:

Los antibióticos β -lactámicos actúan sobre unas enzimas de la pared bacteriana que se conocen como proteínas ligadas a la penicilina o PLP. Existen diferentes clases de PLP en cada especie bacteriana, habitualmente entre 2 y 8 tipos diferentes. Algunas de estas proteínas son transpeptidasas y su misión es mantener íntegra la pared celular. Otras PLP son endopeptidasas y carboxipeptidasas. La pared celular de las bacterias tiene una naturaleza heteropolimérica. Está compuesta por cadenas de glucanos que son fibras lineales con unidades alternas de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico unidas lateralmente y entre las que se cruzan fibras peptídicas cortas que se las unen de forma cruzada.

En general, el entrecruzamiento se caracteriza por el establecimiento de un puente de pentaglicina entre un residuo D-alanina del ácido N-acetilmurámico de una fibra y uno L-lisina de la fibra siguiente.

La reacción de transpeptidación es la responsable del entrecruzamiento de las fibras peptídicas para dar lugar a una estructura entrecruzada que confiere a la pared bacteriana la estabilidad necesaria. La inhibición por parte de la penicilina de la acción de las transpeptidasas catalizadoras de esta reacción da lugar a una pared celular débil, que no puede soportar la presión del medio interior bacteriano y se rompe durante el proceso de división celular, conduciendo a la bacteriólisis⁴⁰. Marín y Gudiol afirman también que: Los β -lactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano. La lisis se produce con concentraciones que superan entre 4 y 10 veces la CMI de un determinado microorganismo. Las bacterias que carecen de autolisina son inhibidas pero no destruidas, por lo que se dice que son tolerantes. Se define el fenómeno de tolerancia como la necesidad de una concentración al menos 32 veces mayor a la CMI para que un antimicrobiano destruya una cepa bacteriana⁴¹.

³⁹ MARÍN y GUDIOL. Op., cit. p. 5.

⁴⁰ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 456.

⁴¹ MARÍN y GUDIOL. Op., cit. p. 5.

- **Mecanismos de resistencia.** Respecto a esto Botana⁴², menciona que los mecanismos de resistencia más comunes son cuatro, entre los que tenemos: Impermeabilidad de la membrana externa de la bacteria al antibiótico, generando resistencia innata; Modificación de las proteínas ligadas a la penicilina, que puede generar una disminución en la afinidad del antibiótico por estas proteínas desarrollando la resistencia; Producción de β -lactamasas, que son enzimas que tienen la capacidad de hidrolizar la unión cíclica amídica en la estructura de los antibióticos β -lactámicos.

Además Marín y Gudiol⁴³, mencionan a la expresión de bombas de eliminación activa como un mecanismo adicional de resistencia a los antibióticos β -lactámicos, ya que estas consisten en bombas de flujo, dependientes de energía, que bombean al antimicrobiano al exterior. Además los mismos autores mencionan que este mecanismo se ha demostrado en ciertos bacilos gramnegativos, especialmente en *P. aeruginosa*.

- **Farmacocinética.** En cuanto a la farmacocinética de los antibióticos β -lactámicos, Botana menciona que:

Los antibióticos β -Lactámicos son ácidos orgánicos débiles formulados habitualmente como sales de sodio o potasio. Aparte de las cefalosporinas formuladas para administración oral, la penicilina V, las aminopenicilinas, y las penicilinas isoxazólicas (p. ej., cloxacilina), estos fármacos se administran por vía parenteral, debido a su fácil desactivación por hidrólisis en el medio ácido gástrico. Tras la administración oral de bencilpenicilina sólo se absorbe un 15-30%, porcentaje que se reduce aún más en presencia de alimento⁴⁴.

En cuanto a la farmacocinética Marín y Guidol afirman sobre los β -lactámicos que: Mediante la administración intravenosa suelen alcanzarse con rapidez concentraciones plasmáticas elevadas. Las penicilinas procaína y benzatina se depositan a nivel muscular y se reabsorben lentamente; la administración intramuscular de ceftriaxona consigue concentraciones plasmáticas elevadas, con niveles terapéuticos durante 24 h. Las sustancias nativas se absorben poco o nada por vía digestiva, mientras que la absorción de algunos derivados sintéticos y

⁴² BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 457.

⁴³ MARÍN y GUDIOL. Op., cit. p. 6.

⁴⁴ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 458.

semisintéticos es mejor (amoxicilina, cloxacilina, cefalosporinas orales). En la sangre circulan como sustancias libres o unidas a las proteínas plasmáticas, relacionándose esta unión con la semivida del antibiótico; sólo la fracción libre es activa y capaz de penetrar al espacio extracelular. Poseen una amplia distribución corporal, con valores séricos y tisulares adecuados, incluyendo bilis y líquido sinovial; cuando existe inflamación del líquido cefalorraquídeo (LCR), la penetración a través de la barrera hematoencefálica aumenta hasta el 10-30%, siendo especialmente elevada para la cloxacilina y las cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Al tratarse de sustancias poco lipofílicas, su penetración intracelular es escasa, no alcanzando casi nunca concentraciones mayores del 25-50% de las concentraciones plasmáticas.

El metabolismo de la mayoría de β -lactámicos es casi nulo, manteniéndose en forma activa hasta su eliminación renal. En algunos preparados predomina la excreción por vía biliar (cefoperazona, ceftriaxona). Muy pocos sufren metabolismo, como la desacetilación (cefalotina, cefotaxima) o la inactivación por las hidroxipeptidasas renales (imipenem)⁴⁵.

- **Farmacodinamia.** Según Botana⁴⁶, se habla que los antibióticos β -lactámicos presentan un efecto antibacteriano dependiente del tiempo superando la concentración mínima inhibitoria, se habla que la existencia de intervalos de tiempo con niveles bajos de penicilina disminuye la eficacia, y que la misma dosis diaria aplicada en dosis más frecuentes es más eficaz que utilizando intervalos mayores entre dosis sucesivas. También se menciona que la duración de la concentración de la penicilina por encima de la concentración mínima inhibitoria para un patógeno en especial se relaciona con la eficacia del fármaco.
- **Penicilinas.** De acuerdo a Malabran⁴⁷, las penicilinas actúan infiriendo la síntesis de la pared bacteriana. Son bactericidas, en las dosis adecuadas y bacteriostáticas en bajas concentraciones. En cuanto a su excreción presentan

⁴⁵ MARÍN y GUDIOL. Op., cit. p. 4-5.

⁴⁶ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 459.

⁴⁷ MALABRAN G., Carlos. Métodos estandarizados para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de animales. 2001. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 16 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/gss/publications/documents/ArgentinaLevell/CIM_ATB_ANIMAS

muy poco metabolismo en el cuerpo, en donde el 90% de su excreción se realiza por secreción tubular renal, siendo excretadas como un compuesto activo. Dentro de las reacciones adversas que menciona el autor tenemos a la anafilaxia, como una reacción inmunomediada.

Teniendo en cuenta lo que menciona el Departamento de farmacología y terapéutica de la facultad de medicina⁴⁸, de la Universidad autónoma de Madrid tenemos que dentro de sus características químicas las penicilinas son sustancias de carácter ácido, también llamadas β -lactaminas en razón de poseer en su molécula un anillo beta lactámico. Haciendo referencia al espectro antimicrobiano de las penicilinas en el mismo documento se menciona también que la Penicilina G es efectiva contra cocos Gram (+), cocos Gram (-), bacilos Gram (+) aerobios y anaerobios, Treponema pallidum y Actinomicetes.

De acuerdo a lo mencionado por Dr. MSc. Núñez F., las penicilinas se pueden clasificar como se muestra en el cuadro 2.

- **Bencilpenicilina (penicilina G) y penicilina V.** teniendo en cuenta lo mencionado por Gómez, Pérez, Blanco, Morán y Hurtado:

La penicilina G o bencilpenicilina es la primera penicilina natural. Es inestable en medio ácido, por lo que se administra por vía parenteral (intramuscular o intravenosa) en forma de sales: penicilina G sódica, penicilina G potásica y penicilina G cálcica.

Estas sales tienen una vida media muy corta, por lo que se han preparado otras sales de acción retardada en las que la penicilina G está asociada a procaína o benzatina. Estas formas retardadas son de administración intramuscular y posibilitan que la penicilina se absorba más lentamente, consiguiéndose niveles séricos más mantenidos. También son formas de penicilina G de acción retardada la penicilina G benetamina y la penicilina G clemizol. Al igual que las formas con procaína o benzatina, son de aplicación intramuscular, pero su uso está poco generalizado y no están comercializadas en España⁴⁹.

⁴⁸ DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y TERAPÉUTICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID. Penicilinas. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/F_General/FG_T62.pdf

Cuadro 2. Clasificación de las penicilinas.

Familia	Antibiótico
PENICILINAS NATURALES	Penicilina G sódica
	Penicilina G benzatínica
	Penicilina G procaínica
	Penicilina G clemizol
	Penicilina V
PENICILINAS SEMISINTÉTICAS	
Aminopenicilinas	Ampicilina
	Amoxicilina
Penicilinas isoxazólicas	Oxacilina
	Dicloxacilina
	Flucloxacilina
	Meticilina
	Nafcilina
Carboxi-penicilinas	Carbenicilina
	Ticarcilina
ureidopenicilinas	piperacilina

Fuente: DR. MSC. NÚÑEZ FREILE, Byron. Uso racional de los antibióticos

- **Aminopenicilinas.** Respecto a las aminopenicilinas Botana afirma:

Las aminopenicilinas se han convertido con los años en fármacos de uso popular en medicina veterinaria debido a su mayor espectro de actividad, que incluye gérmenes grampositivos y gramnegativos, a su facilidad para la administración oral, bajo coste y ausencia prácticamente de toxicidad. En este grupo de fármacos se incluyen la amoxicilina, la ampicilina y los ésteres profármaco hetacilina, pivampicilina, bacampicilina y talampicilina⁵⁰.

⁴⁹ GÓMEZ GARCÍA, A. C., PÉREZ GIRALDO, C., BLANCO ROCA, M. T., MORÁN DOMÍNGUEZ F. J., HURTADO MANZANO, C. Penicilinas. 1998. p. 4. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.sepeap.es/libros/MEDICINE98/Artikulu/m8003.pdf>

⁵⁰ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 461.

Sobre este grupo de penicilinas Gómez García, A. C., Pérez Giraldo, C., Blanco Roca, M. T., Morán Domínguez F. J. y Hurtado Manzano, C⁵¹ afirman que se consideran a las aminopenicilinas como las penicilinas de espectro. Se dice también que son antibióticos semisintéticos formados al introducir un grupo amino en la posición a de la cadena lateral de la penicilina G. se menciona que esta modificación conlleva una mayor estabilidad al pH ácido y mayor actividad sobre bacterias gramnegativas, manteniendo a la vez la eficacia sobre bacterias grampositivas. No obstante, sobre estas últimas su eficacia es un poco menor que la penicilina G, excepto en lo que se refiere a *Enterococcus*. Se habla también sobre algunos casos de resistencia a estos fármacos por la producción de β -lactamasas, para obviar este problema, algunas de ellas (amoxicilina y ampicilina) pueden utilizarse asociadas a inhibidores de las β -lactamasas (la amoxicilina al ácido clavulánico y la ampicilina al sulbactam). La primera aminopenicilina desarrollada fue la ampicilina. Posteriormente fueron introduciéndose en clínica otras aminopenicilinas de estructura relacionada (amoxicilina, ciclacilina y epicilina), así como condensados de ampicilina (hetacilina, metampicilina) y ésteres de ampicilina (bacampicilina, pivampicilina, talampicilina y lenampicilina). Todas las aminopenicilinas tienen unas propiedades antibacterianas similares, sin que existan diferencias importantes entre ellas. Igual que ampicilina y amoxicilina, las restantes aminopenicilinas tampoco son estables a las β -lactamasas. Las diferencias entre las componentes de este grupo son fundamentalmente de tipo farmacocinético.

Núñez F., menciona sobre las aminopenicilinas que, “son útiles en infecciones graves en combinación con aminoglucósidos y nitroimidazoles. Son antibióticos de elección en infecciones respiratorias altas y bajas, otitis media, sinusitis, Infecciones de vías urinarias altas y bajas. Infecciones por enterococos”⁵².

- **Penicilinas antiestafilocócicas o penicilinas isoxazólicas.** De este grupo Botana afirma que:

Este grupo lo integran las isoxazolilpenicilinas (cloxacilina, dicloxacilina, oxacilina, y los derivados sintéticos meticilina y nafcilina). La característica definitoria de este grupo es su resistencia a la β -lactamasa de *S. aureus*, por lo que se utiliza fundamentalmente en el tratamiento de infecciones causadas por este

⁵¹ GÓMEZ GARCÍA, A. C., PÉREZ GIRALDO, C., BLANCO ROCA, M. T., MORÁN DOMÍNGUEZ F. J., HURTADO MANZANO, C. Op., cit. p. 6-7.

⁵² DR. MSC. NÚÑEZ FREILE, Byron. Uso racional de los antibióticos. p. 4. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://virtual.unipar.br/courses/CL/document/penicilinas3.pdf?cidReq=CL>

microorganismo, en especial la mastitis bovina y por vía intramamaria. Carecen de actividad frente a los microorganismos gramnegativos, porque no atraviesan bien la membrana externa de estos últimos⁵³.

En cuanto al uso el Núñez F.⁵⁴ afirma sobre las penicilinas isoxazólicas que tienen una excelente indicación en el tratamiento de infecciones provocadas por cocos grampositivos sensibles, como estafilococos productores de penicilinasas y que se las recomienda en infecciones de piel y tejidos blandos, sepsis o neumonía estafilocócica.

- **Penicilinas antipseudomonas.** Casanova C., afirma al respecto de este grupo que:

Aunque son tres grupos diferentes, a estos β -lactámicos se los conoce como penicilinas antipseudomonas por su espectro tan específico contra la *Pseudomonas aeruginosa*. La primera carboxipenicilina fue la carbenicilina la cual aminoró en grado extraordinario la tasa de mortalidad en pacientes infectados por esta bacteria; desafortunadamente, al poco tiempo se observó una resistencia cada vez mayor no sólo a la *Pseudomonas aeruginosa*, sino a otras bacterias. Posteriormente, dentro de este mismo grupo surgió la ticarcilina sódica, sustancia que ahora sólo se encuentra disponible en asociación con un inhibidor de β -lactamasas. El segundo grupo, las ureidopenicilinas, representada por la piperacilina, sólo se encuentra disponible en asociación con un inhibidor de β -lactamasas, pues también salió del mercado⁵⁵.

En cuanto al mismo grupo Botana⁵⁶, afirma que de entre las carboxipenicilinas y las ureidopenicilinas, las últimas pueden además de resistir la acción inactivadora de las β -lactamasas de algunos microorganismos gramnegativos y muestran un amplio espectro de proteínas ligadas a la penicilina (PLP). El mismo autor

⁵³ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 462.

⁵⁴ DR. MSC. NÚÑEZ FREILE. Op., cit. p. 4.

⁵⁵ CASANOVA CARDIEL, Luís. Carboxipenicilinas, ureidopenicilinas y sulfopenicilinas. p. 1. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/carboxipenicilinas.pdf

⁵⁶ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 462.

menciona a los fármacos que representan a cada grupo siendo para las carboxipenicilinas: carbenicilina, ticarcilina; y para las ureidopenicilinas: piperacilina, azlocilina y mezlocilina.

- **Cefalosporinas.** Según el artículo de la página de Internet del bgb-biogen GmbH se afirma sobre las cefalosporinas lo siguiente:

En 1945, Giuseppe Brotzu inició sus investigaciones en busca de microorganismos productores de antibióticos, aislando un hongo en el mar, el *Cephalosporium acremonium*, primera fuente de cefalosporinas, cerca de un desagüe cloacal en las afueras de Cagliari, en Cerdeña. Pudo observar que los filtrados del cultivo de este hongo inhibían «*in vitro*» el crecimiento del *Staphylococcus Aureus* y curaba las infecciones estafilocócicas y la fiebre tifoidea en el hombre. En 1948, Abraham, en Oxford, Inglaterra, pudo comprobar que en estos cultivos existían tres antibióticos diferentes denominados cefalosporinas P, N y C. Una vez aislado el núcleo y mediante el agregado de cadenas laterales fue posible producir compuestos, a partir de la cefalosporina C, que tuvieron una actividad superior a la de la sustancia original⁵⁷.

Coria L., nos habla de este grupo de antibióticos así:

El grupo de antibióticos β -lactámicos que más se ha diversificado y utilizado en la terapéutica anti infecciosa es el de las cefalosporinas, las cuales, por razones comerciales, se les ha clasificado de la primera a la cuarta generación. Las cefalosporinas de primera generación son para grampositivos; las de segunda generación son más equilibradas y tienen acción sobre grampositivos y negativos. Las de tercera y cuarta generación están más orientadas hacia gramnegativos. Al igual que la mayoría de los antibióticos β -lactámicos tienen actividad bactericida con excelente penetración, absorción y concentración en tejidos y sangre⁵⁸.

⁵⁷ BGB-BIOGEN GMBH. Cefalosporinas. [En línea]. Página web versión Html. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.dic.org.ar/enfpleu/epp099.php#7.4.3>.

⁵⁸ CORIA LORENZO, José de Jesús. Cefalosporinas. p. 1. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/cefalosporinas.pdf

Respecto a las cefalosporinas Botana⁵⁹, menciona que dentro de los usos más comunes para estos antibióticos tenemos a las infecciones de la piel, el tracto urinario, los huesos y los tejidos blandos, además de la profilaxis quirúrgica.

En cuanto a algunas de las características farmacológicas y reacciones adversas generales de las cefalosporinas, en el artículo de la página de Internet de BGB-BIOGEN GMBH⁶⁰, se menciona que algunas de las cefalosporinas pueden ser absorbidas por vía oral como la cefalexina, el cefadroxilo, el cefaclor, la cefuroxima y la cefixima; mientras que el resto de las cefalosporinas deben ser administradas por vía parenteral, teniendo muy en cuenta que la cefalotina y cefapirina son dolorosas cuando se aplican por la vía intramuscular, por lo que únicamente se deben emplear por la vía intravenosa. Es importante mencionar que la mayoría de las cefalosporinas son excretadas por los riñones aunque fármacos como la cefoperazona y la ceftriaxona son excretadas principalmente por el hígado.

Dentro de las reacciones adversas en el mismo artículo se menciona que:

Luego de la administración intravenosa, todas las cefalosporinas pueden producir tromboflebitis. Los efectos secundarios sistémicos más frecuentes son las reacciones de hipersensibilidad. Se han registrado reacciones inmediatas de anafilaxia, broncoespasmo y urticaria. Comúnmente los pacientes desarrollan una erupción maculopapular [...] Se han descrito casos de fiebre y adenopatías sin otra manifestación alérgica. Las reacciones alérgicas a los fármacos en general son tres veces más frecuentes en pacientes con alergia a la penicilina. Se han observado reacciones alérgicas a las cefalosporinas en pacientes que lo son a la penicilina, si bien no se dispone de mecanismos idóneos para la predicción exacta de reacciones alérgicas cruzadas. Por lo tanto, el uso de cefalosporinas en pacientes alérgicos a la penicilina debe estar guiado por la severidad de la alergia, la disponibilidad de antibióticos y el juicio clínico⁶¹.

- **Cefalosporinas de primera generación.** En cuanto a las cefalosporinas de primera generación Botana, menciona que:

⁵⁹ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 464.

⁶⁰ BGB-BIOGEN GMBH. Op., cit. p. 1

⁶¹ Ibid. p. 1.

Este subgrupo incluye cefadroxilo, cefazolina, cefalexina, cefaloglicina, cefalotina, cefapirina y cefradina. Las cefalosporinas de primera generación tienen la máxima actividad entre todas las cefalosporinas frente a bacterias grampositivas, entre las que incluyen *Streptococcus*, *Coruynebacterium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* (microorganismo típico de las infecciones cutáneas), y otros estafilococos productores de β -lactamasas⁶².

En cuanto a este grupo Coria L menciona: “Las cefalosporinas de primera generación son antibióticos de espectro selectivo para cocos grampositivos y tienen actividad bactericida con excelente penetración, absorción y concentración en tejidos y sangre”⁶³.

- **Cefalosporinas de segunda generación.** En otro artículo de la página de Internet de BGB-BIOGEN GMBH, se afirma que: “Son mas potentes que las de primera generación contra *Escherichia coli*, *Klebsiella* y *Proteus* indol negativo. Extienden el espectro a *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter*, *Proteus* indol positivos, anaerobios, *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae*. Ninguno de estos agentes es efectivo contra *Pseudomonas*”⁶⁴.

De acuerdo con Calderón J. se menciona sobre las cefalosporinas de segunda generación que, “Las también denominadas cefemas, son antibióticos β -lactámicos con un espectro mayor que sus congéneres de primera generación y abarcan grampositivos y gramnegativos. Como todos los beta lactámicos, tienen actividad bactericida con excelente penetración, absorción y buena concentración en tejidos y sangre”⁶⁵.

Sobre este grupo para medicina veterinaria Botana menciona que, “Este subgrupo incluye cefaclor, cefamandol, cefmetazol, cefonicid, cefotetán, cefoxitina, cefproxilo

⁶² BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 464.

⁶³ CORIA LORENZO. Op., cit. p. 1.

⁶⁴ BGB-BIOGEN GMBH. Infecciones pulmonares. [En línea]. Página web versión Html. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.dic.org.ar/enfpleu/epp100.php#7.4.3.1>.

⁶⁵ CALDERON JAIMES, Ernesto. Cefalosporinas de segunda generación. p. 3. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/cefalosporinas.pdf

y cefuroxima. [...] Poseen mayor resistencia frente a las β -lactamasas bacterianas y atraviesan mejor la capa externa de los microorganismos gramnegativos”⁶⁶.

- **Cefalosporinas de tercera generación.** Respecto a este subgrupo Botana menciona que:

Incluyen cefixima, cefoperazona, cefpodoxima, ceftazidima, moxalactam, cefotaxima, ceftiozoxima, ceftriaxona, y ceftiofur. Las cefalosporinas de tercera generación son las más eficaces frente a bacterias gramnegativas resistentes a otros antibióticos. Solo la ceftazidima y la cefoperazona poseen buena actividad frente a las pseudomonas, en particular la primera⁶⁷.

Respecto a las cefalosporinas de tercera generación se menciona en el artículo de la página de Internet de BGB-BIOGEN GMBH, lo siguiente:

Son las que presentan el espectro mas amplio y la mayor actividad contra los bacilos Gram- negativos. Pueden dividirse en dos tipos, de acuerdo a su actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*.

Así, cefotaxima, ceftiozoxima, ceftriaxona, moxalactam y la cefixima, esta última por vía oral, tienen poca actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*. Por el otro lado, ceftazidime y cefoperazona tienen actividad anti *Pseudomonas aeruginosa*⁶⁸.

- **Cefalosporinas de cuarta generación.** Teniendo en cuenta lo mencionado por Ortiz I., se menciona que, “surgen como una respuesta a la creciente resistencia bacteriana en los nosocomios. Son antibióticos β -lactámicos bactericidas con amplio espectro hacia gramnegativos”⁶⁹.

⁶⁶ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 464.

⁶⁷ Ibid. p. 465.

⁶⁸ BGB-BIOGEN GMBH. Op., cit. 1.

⁶⁹ ORTIZ IBARRA, Javier. Cefalosporinas de cuarta generación. p. 5. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/cefalosporinas.pdf

De acuerdo a Botana:

Existe una cuarta generación de cefalosporinas integrada por un miembro, la cefapima. Aunque su uso no se ha documentado aún en medicina veterinaria, este fármaco, solo disponible en forma inyectable, amplía el espectro de acción de las cefalosporinas de tercera generación a la mayoría de grampositivos y gramnegativos, incluyendo *Pseudomonas* y *Enterobacter*. Su principal diferencia con las cefalosporinas de tercera generación es su mayor resistencia a las β -lactamasas⁷⁰.

4.2.6 Repercusión de residuos de antibióticos en leche. La incidencia de enfermedades en las vacas lecheras requiere de la utilización de antibióticos en su tratamiento. Son varios los antibióticos cuyo uso está ampliamente difundido en la ganadería lechera, constituyéndose en los principales contaminantes de la leche, a la vez que la hace inapta para el consumo humano por contravenir el Reglamento Sanitario de Alimentos.

El uso indiscriminado de estos fármacos, especialmente cuando no es aplicado por el profesional médico Veterinario, determina su presencia en la leche, con consecuencia grave en la salud del consumidor, como son: Sensibilidad, resistencia, alergias, cambios en la flora intestinal.

Los hábitos de consumo cotidiano van a estibar el riesgo constante de la población de adquirir la leche fresca o sus derivados contaminados con residuos de antibióticos. Ello conlleva a la imperiosa necesidad de efectuar muestras continuas que faciliten su detección impedir la comercialización del producto, en vista de que estos fármacos no se metabolizan en su totalidad, ni se inactiva con la industrialización(Benzunce 1988).El nivel y la duración de la infusión de antibióticos en la leche depende de numerosos factores, siendo los más importantes, el tipo de presentación, la preparación de antibióticos, utilizados (solución acuosa, pomada, preparación acción prolongada) y el tipo de administración (intramamaria, intrauterina e intramuscular) (Technical Management Communications 1991).⁷¹

⁷⁰ BOTANA LÓPEZ. Op., cit. p. 465.

⁷¹ Gladis A. Llanos Cortesana. Determinación de residuos de antibióticos en la leche fresca que consume la población de Cajamarca. [En línea]. Pagina Web versión HTML, [fecha de consulta: Enero 17 de 2007]. Disponible en internet: http://scholar.google.com/scholar?hl=es&lr=lang_es&q=cache:B9aB88dRtCYJ:www.unapi

Cuando se introduce un antibiótico en la ubre, éste se distribuye en el tejido mamario por los conductos galactóforos y es transferido al torrente sanguíneo por un mecanismo fisicoquímico que depende del valor de pKa (valor de disociación) del preparado, valor de pH del plasma sanguíneo, proteína ligada al antibiótico y valor de pH de la leche. Debido a esto, la reabsorción del producto es muy variable de acuerdo al preparado y al animal.

De la dosis administrada a la glándula mamaria, una parte es absorbida pasando al torrente sanguíneo, otra es inactivada por la leche y los productos generados por la infección y el resto, que es la mayor parte, es excretada a la leche durante los ordeños posteriores.

Cuadro 3. Inhibidores naturales de la leche

INHIBIDORES NATURALES DE LA LECHE		
NOMBRE	REFERENCIA	PROPIEDADES
Lactenina	Jones & Simms, 1930 Auclair et al, 1935	Dos tipos Especialmente en calostro (poco activa en anaerobiosis); efecto Menor en la leche
	Morris, 1945	Factor específico contra Ciertos coliformes
Inmunoglobulinas	Sinnel, 1966	
Pseudoglobulinas	Vedamuth et al, 1974	Inhibición de propionibacterias en suero
Hormonas	Lestes & Hecher, 1958	
Ácidos Grasos libres	Maxcy & Chandan, 1952	Inhibición lactobacilos
		Sc. Lactis
Leucocitos	Whintehead & Cox, 1956	Fagocitosis

Fuente: Haroldo Magariños. Producción higiénica de la leche cruda.

quitos.edu.pe/facultades/alimentarias/v22/4.pdf+residuos+de+antibioticos+en+leche+cruda

Existe una correlación negativa entre el tiempo de eliminación del antibiótico y el volumen de leche producido por el animal. Los animales de baja producción demoran en excretar el preparado, principalmente por la mala absorción y secreción de los cuartos afectados. El ordeño frecuente aumenta el efecto de dilución y por lo tanto acorta el tiempo de eliminación del antibiótico.

Por otra parte, no sólo la leche de los cuartos tratados es la que se contamina. Se ha podido comprobar, en algunos casos, actividad antibiótica en los cuartos vecinos no tratados, actividad que permanece, por lo general, durante un período de tiempo igual a la mitad del observado para los tratados. Es posible que esta situación se produzca por difusión pasiva entre la sangre y la leche y también por difusión directa entre los tejidos mamarios.

Debido a que los antibióticos de aplicación intramamaria son de fácil aplicación y generalmente baratos, dado que usualmente no se consulta al médico veterinario para su aplicación, se han hecho muy populares en las explotaciones lecheras y la consecuencia inmediata de esto es su reconocimiento como la principal causa de aparición de residuos de antibióticos en la leche.

Tabla 4. Causas de la presencia de residuos de penicilina en los suministros de leche

CAUSAS DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE PENICILINA EN LOS SUMINISTROS DE LECHE	
Errores de orientación y practicas inadecuadas	42%
* incorrecta aplicación de recomendaciones	22%
* recomendaciones equivocadas	6%
* uso de ungüentos y sustancias que contengan Penicilina	7%
* limpieza insuficiente de la maquina de ordeño	7%
Comunicación y difusión insuficiente en el predio	42%
Partos prematuros en el periodo seco	8%
Adquisición de vacas tratadas con penicilina	3%
Causas desconocidas	5%
Total	100%

Fuente: Haroldo Magariños. Producción higiénica .de la leche cruda.

4.3 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE RESIDUOS ANTIBIÓTICOS

4.3.1 Generalidades. Teniendo en cuenta el artículo de Parra T. se puede decir de los métodos de detección de los residuos antibióticos que:

Existen varios métodos cuantitativos y cualitativos para detectar residuos de antibióticos en leche. Entre las pruebas de rutina están: técnicas bacteriológicas, inmunológicas y de radio inmunoensayo (RIA). Las pruebas bacteriológicas están basadas en la inhibición del crecimiento de algunos de estos organismos: *Bacillus stearothermophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus subtilis* y *Micrococcus luteus* (*Sarcina lutea*). Las pruebas inmunológicas utilizan anticuerpos monoclonales, para ligar los antibióticos. La prueba de ELISA también se usa en este tipo de pruebas, con componente enzimático. Existen otros métodos como las de cromatografía líquida y de gases, que son pruebas más sofisticadas; sin embargo, la literatura científica sugiere la propuesta de un procedimiento válido, que mantenga la especificidad y la sensibilidad o un valor predictivo alto.⁷²

4.3.2 Clasificación.

- **Tests microbiológicos.** De acuerdo con la clasificación realizada por Fabre J.⁷³, este es uno de los métodos de detección de antibióticos, además afirma también que consisten en detectar a un antibiótico con una cepa bacteriana, la cual es inhibida o no por la presencia del antibiótico. Para simplificar dichos tests detectan numerosos antibióticos en umbrales muy cercanos al MRL (límite máximo residual). Estos son tests cualitativos, pero con un umbral conocido. Estas pruebas como algunos test rápidos pueden ser realizados por no profesionales, mientras que los otros tests solo pueden ser realizados en laboratorios adaptados con técnicos especializados. Los tests microbiológicos cuestan unos cuantos euros mientras que las otras pruebas pueden costar alrededor de 100 euros por molécula buscada. A la fecha, los principales tests utilizados en el mundo y los más antiguos de este tipo son Delvotest® y BrTest®. Cabe anotar que la mayoría de estas pruebas utilizan a la misma bacteria: *Bacillus stearothermophilus*. Como un ejemplo se estima que en Francia 5.000.000 de pruebas microbiológicas de Delvotest® se realizan por productores de leche en el año. Es importante mencionar que la existencia de

⁷² PARRA T. Op., cit. p. 51-52.

⁷³ FABRE J.M. 4.1 Antibiotic detection methods in milk. 2006. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/static/delvotest/downloads/LesRisquesDeResidus_extrait4_En.pdf

inhibidores naturales en leche anormal pueden llegar a acusar falsos positivos. Esto es particularmente real en vacas que sufren de mastitis o para el calostro.

- **Difusión en gelosa.** El mismo autor, Fabre⁷⁴, nos da a conocer que: este fue el primer método utilizado y consiste en empapar un papel filtro con leche y colocarlo en una caja de Petri con una mezcla de un medio de cultivo y una bacteria hipersensible como *Bacillus stearothermophilus* variedad *calidolactis*. Con este método se tenía la posibilidad de determinar penicilina y otros β -lactámicos incubando por 2 horas y media a 55 grados centígrados el cultivo mencionado. Así se obtiene un halo de inhibición de 12 mm.
- **Difusión en gelosa y acidificación.** Fabre⁷⁵, menciona también que, utilizando el mismo microorganismo mencionado en el método anterior y mediante sofisticados métodos de acidificación, se puede aumentar la sensibilidad de 5 a 10 veces con respecto al método simple de difusión en gelosa, para determinar cloranfenicol y neomicina sin embargo el método es poco práctico y caro (7), alternativamente se ha empleado el *Stresptococcus termophilus*, que resulta más sensible a éstos últimos fármacos , habiendo sido utilizado también para detectar penicilina a una concentración de .07 UI por ml según Dos Santos el empleo de otros Microorganismos: Para aumentar la sensibilidad lograda con los microorganismos ya mencionados, se recurrió a otros en particular siendo éstos: *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterius*, *Bacillus cereus* y *Micrococcus luteus*.
- **Tests Rápidos.** Fabre⁷⁶ también menciona que, estas pruebas se definen mas por sus funcionalidades que por las numerosas tecnologías que emplean. De hecho todas estas pruebas proveen un análisis cualitativo en pocos minutos, generalmente para una familia de antibióticos. Algunos de los más usados para la detección de Beta-lactámicos son: Penzym, Delvo-X-PressM BL, Betastar, Snap, Charm II.

⁷⁴ Ibid. p. 3.

⁷⁵ Ibid. p. 3.

⁷⁶ Ibid. p. 2.

- **Tests específicos.** El mismo autor, Fabre⁷⁷, menciona que utilizando cromatografía líquida de alta resolución, por ejemplo, se puede buscar una partícula y cuantificarla. Es posible buscar al mismo tiempo varias moléculas previamente definidas.
- **Tests de identificación y cuantificación.** Son por ejemplo los que se basan en el principio de la cromatografía líquida y espectrometría de masa. Se utilizan frecuentemente como pruebas de confirmación para pruebas rápidas.⁷⁸
- **Electroforesis.** De acuerdo a Ocampo: Este método es especialmente útil para detectar residuos que no tienen actividad antimicrobiana. Este método se puso en práctica en 1979 por Tao y Billon, y presenta las siguientes ventajas:
 1. Eliminación de sustancias de actividad antimicrobiana como son los antibióticos naturales, incluyendo lacto-peroxidasa, aglutininas y lactotransferrinas del calostro.
 2. Mayor sensibilidad para la detección con respecto a los métodos de gelosa.
 3. Permite cierta clasificación de los principales grupos de antibióticos. El método consiste en aplicar 0.1 ml de la leche problema en una capa de gelosa, haciendo pasar una corriente eléctrica de 150 a 160 volts con un potencial diferencial a la gelosa de 100 volts, aplicado por 4 horas a una intensidad de 40 mA. La gelosa debe tener un pH de 5.0 a 8.6. Así pues la fracción que migró del antibiótico, se determina con relación a un estándar. La presencia del antibiótico se revela con algún microorganismo de los antes citados en un medio de cultivo similar. De ésta manera la penicilina migra a el ánodo y la neomicina migra a los dos polos, el resto de los antibióticos migran al cátodo⁷⁹.
- **Espectrofotometría con luz ultravioleta.** El mismo autor menciona que: Este método consiste en colocar la sustancia problema, que pueda ser gas, líquido

⁷⁷ Ibid. p. 3.

⁷⁸ FABRE J.M. Risks related to the presence of antibiotic residues in food. Op., cit. p. 1

⁷⁹ OCAMPO C., Luís. Residuos de fármacos en productos de origen animal. p. 7. . [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/BtRgClig011.pdf>

o sólido en el espectrofotómetro, y el vapor que de ellas emane se introduce a una cámara marcadora a una presión que va de 1 a 150°micrones. Después el vapor se filtra lentamente para llegar al compartimiento del analizador, cual se bombea posteriormente afuera del sistema. Para mantener una presión constante, la muestra se filtra de manera continua hacia la cámara marcadora, durante el periodo en el cual se corre el espectro con una lámpara de gas. La prueba es capaz de detectar hasta menos de 1 miligramo de acetona⁸⁰.

- **Cromatografía.** Ocampo menciona también, sobre este método que: Todos los tipos de cromatografía se pueden definir como un proceso de migración diferencial cuando los componentes de la muestra problema son retenidos selectivamente por una fase estacionaria. La fase estacionaria debe ser un sólido en movimiento o un líquido inmóvil. Las técnicas de cromatografía son esencialmente procesos de separación. A pesar de esto, algunas de éstas técnicas pueden ser cuantitativas. Dentro de las cromatografías existe la realizada en papel, que es un método ya abandonado.

La cromatografía en placa fina en (sílica gel y en celulosa) han dado los resultados siguientes: después de la extracción y separación de los antibióticos presentes en la leche se ha detectado en la medición de la fluorescencia en la placa bajo luz ultravioleta un nivel de 0.05 ppm de tetraciclina y sulfonamidas a razón de 0.1 ppm en tejidos.

La cromatografía líquida consiste en colocar por participación entre el líquido móvil y el líquido estacionario a la muestra problema. El líquido móvil no debe ser un solvente con respecto al líquido estacionario. Un subgrupo de éste tipo de cromatografía es la que se realiza en papel que como ya se mencionó es obsoleta. Dentro de las posibilidades utilizadas en la cromatografía líquida está la detección de antibióticos como el cloranfenicol a razón de 2 ppm en la leche [...] así mismo se usó para determinar la presencia de Ivermectina en la leche y en el plasma encontrando 2 nanogramos por mililitro según Toutain (11). (66), oxitetraciclina en concentración de 0.05 a 5 ppm en tejidos⁸¹.

⁸⁰ Ibid. p. 8.

⁸¹ Ibid. p. 8.

4.3.3 Delvotest®. De este producto se afirma en página de Internet de Dsm⁸², que es una prueba microbiológica la cual puede detectar la presencia de un amplio rango de antibióticos, principalmente Beta-Lactámicos, esto gracias al cultivo bacteriano de *Bacillus stearothermophilus*. Además que cuando se emplea para probar leche, el crecimiento de este cultivo es inhibido si los antibióticos se encuentran presentes.

Según Popelka, Nagy, Popelka, Marcincak, Rozanka y Sokol⁸³, en un experimento que apuntó a la evaluación del grado de sensibilidad para la detectar los límites de antibióticos β -Lactámicos que incluía a la penicilina G, ampicilina, oxzacilina y cloxacilina, con cuatro sistemas de ensayo: ensayo de difusión en disco con *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, Delvotest SP, Charm II test, Cromatografía líquida de alto desempeño. Obteniendo como resultado que se logró una sensibilidad elevada y una buena correlación de los resultados, aplicando test rápidos como Delvotest SP en comparación con un método menos sensible como el del ensayo de difusión en disco.

Citando de nuevo a Popelka, Nagy, Popelka, Marcincak, Rozanka y Sokol⁸⁴, en un estudio diferente en donde se compararon varios sistemas para examinar 108 muestras de leche de vacas que estaban recibiendo un tratamiento antibiótico en una infusión intramamaria, además de in tratamiento parenteral con β -Lactámicos. Se encontró que Delvotest presentó un resultado comparable con la prueba de cromatografía líquida. En donde ambos, Delvotest como el método de cromatografía líquida dieron como positivos en donde las otras pruebas dieron negativos.

⁸² DSM. Delvotest – Used everywhere. . [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 15 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/en_US/delvotest/html/delvotest_1.htm

⁸³ POPELKA, Peter, NAGY, Jozef, POPELKA, Pavel, MARCINCAK, Slavomir, ROZANKA, Hanna, SOKOL, Jozef. Comparison of sensitivity of various screening assays and liquid chromatography technique for penicillin residue detection in milk. 2004. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: mayo 2 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.piwet.pulawy.pl/doc/biuletyn_48-3/18_popelka.pdf

⁸⁴ POPELKA, Peter, NAGY, Jozef, POPELKA, Pavel, MARCINCAK, Slavomir, ROZANKA, Hanna, SOKOL, Jozef. Comparison of various methods for penicillin residue detection in cow milk after intramammary and parenteral treatment. 2002. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: mayo 2 de 2007]. Disponible en Internet: http://esterka.piwet.pulawy.pl/doc/biuletyn_47-1/26-357_Popelka.pdf

Hablando de la sensibilidad del test, Rushing⁸⁵, afirma que el Kit Delvotest detecta los siguientes antibióticos y respectivos niveles: Penicilina G (3 ppb), Ampicilina (10 ppb), Amoxicilina (8 ppb), Cefapirina (8 ppb), Ceftiofur (50 ppb).

4.4 SALUD PÚBLICA

Los antibióticos, sulfamidas y nitrofuranos, cuando se encuentran presentes en la leche ocasionan graves problemas en la salud pública y en los procesos tecnológicos.

- **Implicaciones para la salud pública.** De acuerdo a Parra:

Aunque los residuos solo se encuentren en los alimentos en muy baja concentración, es posible que la ingestión regular de pequeñas cantidades, de una misma sustancia, pueda determinar manifestaciones tóxicas, a largo plazo, por efectos acumulativos. Los efectos tóxicos pueden agruparse en directos e indirectos. Son efectos directos, aquellos producidos por la utilización de antibióticos, en condiciones terapéuticas. Se manifiestan en variadas formas clínicas como: toxicidad en riñón, hígado, sangre, médula, oído, efectos teratogénicos, carcinogénicos y alergias graves. Los efectos indirectos son los asociados a los fenómenos de resistencia bacteriana y a las reacciones alérgicas. Además, los antibióticos presentes en la leche pueden inducir alteración de la flora intestinal, desarrollo de microorganismos patógenos y reducción de la síntesis de vitaminas. La resistencia bacteriana es un problema ecológico, pues las cepas resistentes a antimicrobianos, no solamente afectan a los individuos que están siendo tratados, sino que también afectan a los individuos que comparten el mismo ambiente⁸⁶.

4.4.1 Efectos Directos. Teniendo en cuenta a los anteriormente mencionados autores tenemos que: En el caso de la toxicidad directa el reporte más frecuentemente mencionado de toxicidad es el relacionado a la presencia de

⁸⁵ RUSHING J.E., WESEN D.P. Preventing antibiotic residues in milk. Departments of Food Science and Animal Science, North Carolina State University. [en línea]. Pagina web versión HTML. [fecha de consulta: febrero 7 de 2007]. Disponible en Internet: http://www2.ncsu.edu/ncsu/cals/food_science/faculty/rushing/jrushing.html

⁸⁶ PARRA T. Op., cit. p. 23.

cloranfenicol. Hoy en día el cloranfenicol es el antibiótico más estudiado por los planes de vigilancia. Aunque su toxicidad inherente se ha dramatizado por diferentes razones, este antibiótico posee posibilidades inmunotóxicas y genotóxicas leves. La inmunotoxicidad aunque rara, es fatal en los seres humanos (anemia aplásica), y no se ha probado aun una relación dosis efecto (lo que no implica que no la exista). Recientemente se ha resaltado que el uso terapéutico del cloranfenicol en los humanos como un colirio (equivalente a 10 mg por dosis, al inicio de los casos que se conocen), crean menos de una reacción al año en el mundo. La absorción sistémica desde el ojo es muy baja. Está estimada por debajo del 1% de la dosis, la cantidad absorbida por el organismo puede ser evaluada aproximadamente a un nivel máximo de 100 microgramos, equivalentes a una dosis por encima de las dosis residuales ingeridas en alimentos contaminados. A pesar de la posible genotoxicidad del cloranfenicol, experiencias in vivo con roedores, mostraron efectos genotóxicos bajos. De todas formas las dosis empleadas superaban 25 veces las dosis terapéuticas⁸⁷.

4.4.2 Efectos indirectos.

- **Resistencia bacteriana.** Mcdermott, Zhao, Wagner, Simjee, Walter, White, mencionan que:

Las cepas bacterianas resistentes a antibióticos son una amenaza en aumento tanto para la salud animal como para la salud humana, con mecanismos de resistencia identificados y descritos para todos los antibióticos conocidos y disponibles para el uso clínico. Hay un creciente interés en la administración de microbianos en dosis y sub-dosis terapéuticas a los animales, debido principalmente a la diseminación de múltiples bacterias resistentes de carácter zoonótico⁸⁸.

Levy menciona también que:

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en un problema clínico y de salud pública dentro de la vida de la mayoría de las personas hoy en día. Confrontándose con el aumento de la variedad de antibióticos en los ya pasados 60 años, las bacterias han respondido con la propagación de una progenie que no es susceptible a ellos. Mientras está claro que la selección bacteriana de la

⁸⁷ Ibid. p. 1

⁸⁸ Ibid. p. 1

resistencia es aleatoria, la expansión de los genes de resistencia o bacterias resistentes también contribuye al problema. La selección de formas resistentes puede ocurrir durante o después del tratamiento antimicrobiano ya que los residuos antibióticos se pueden encontrar en el ambiente por largos periodos después del tratamiento⁸⁹.

- **Alergias.** Del texto de Fabre J⁹⁰, se puede afirmar que se sabe que la presentación de alergias en las personas tratadas con antibióticos no es rara. Ya que los antibióticos y algunos fármacos antiinflamatorios son las moléculas que se encuentran bajo mayor observación e investigación por su efecto alergénico en los seres humanos. De entre los antibióticos los más mencionados por haber provocado alergias en medicina humana son: amoxicilina, trimetoprim sulfa, ampicilina, cefalosporinas, eritromicina, penicilina G, así como la estreptomina y en una menor proporción la neomicina, los nitrofuranos, la novomicina y las tetraciclinas. Muchos de estos antibióticos relacionados con las alergias en los seres humanos también se emplean en las granjas frecuentemente, es por esto que hay un riesgo potencial de alergias en el caso de ingestión de alimentos con residuos. En realidad este riesgo existe principalmente con las penicilinas, que de entre todos los antibióticos son las más inmunogénicas y además las más frecuentemente empleadas. Relacionar una reacción alérgica a la presencia de residuos en los alimentos es complicado, además el número de alergias por residuos que se conocen son muy limitadas. Es por esto que se realizaron pruebas en voluntarios humanos, que se sabía eran alérgicos a la penicilina, esto para estudiar las consecuencias de consumir alimentos con residuos. Se adicionaron 75 microgramos por litro de penicilina G (más de 18 veces el MRL), y se administró la mezcla a 13 voluntarios alérgicos: solo 4 de ellos presentó reacciones positivas (urticaria), 3 presentaron reacciones inciertas y 6 no presentaron reacción alguna. En otra prueba, nueve voluntarios alérgicos a la penicilina G, fueron tratados con carne de cerdo contaminada con 6 microgramos del antibiótico. Dos de ellos presentaron sensaciones de comezón.

⁸⁹ LEVY, Stuart B. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. The 2000 Garrod Lecture. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2002. p. 25. [en línea]. Archivo web versión PDF. [fecha de consulta: marzo 26 de 2007]. Disponible en Internet: <http://jac.oxfordjournals.org/cgi/reprint/49/1/25?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=antibiotic+residues&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>

⁹⁰ FABRE J.M. 2.4. Risks related to the presence of antibiotic residues in food. 2006. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/static/delvotest/downloads/LesRisquesDeResidus_extrait3_En.pdf

- **Alteración de la flora intestinal.** En artículo de Calvinho se menciona que:

Los seres humanos expuestos a antibióticos en la leche podrían padecer problemas alérgicos. El interés en esta área se ha centrado en la penicilina, por la posibilidad que la exposición a ésta a través de la leche pueda llevar al desarrollo de hipersensibilidad o estimular respuestas alérgicas en individuos previamente sensibilizados. Con los actuales conocimientos sobre los mecanismos de alergia, la posibilidad de que se presente el primer caso parece remota. La sensibilización primaria sigue usualmente a la administración parenteral y es inusual que se produzca luego de la terapia oral con penicilina. No obstante, el riesgo para los individuos previamente alérgicos no puede ser descartado. Aunque la penicilina consumida en leche puede estimular la aparición de reacciones de hipersensibilidad, el número de incidentes informados en países desarrollados es bajo⁹¹.

El mismo autor afirma también:

Se considera sin embargo, que el consumo de leche contaminada con penicilina es solamente un riesgo para aquellos individuos más intensamente sensibilizados. Cabe destacar que esta consideración se basa en el nivel de contaminación que puede observarse en suministro a granel y no se aplicará necesariamente al consumo de leche altamente contaminada procedente de una o pocas vacas tratadas que sea destinada al consumo familiar. El segundo riesgo potencial para la salud humana es a través de la aparición de resistencia bacteriana a los antimicrobianos. El antimicrobiano en la leche puede eliminar bacterias sensibles y permite la sobrevivencia de las resistentes; además, la resistencia bacteriana es transferible entre bacterias que habitan en el tracto digestivo⁹².

⁹¹ CALVINHO, Luís F. ¿Cómo producir leche sana?. 2003. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: septiembre 14 2007]. Disponible en Internet: http://www.cuencarural.com/lecheria/como_producir_leche_sana/

⁹² Ibid. p 1.

4.5 PRUEBAS PARA DETERMINAR LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DE LA LECHE

4.5.1 Generalidades. Teniendo en cuenta al artículo 18 en el Capítulo V de la ley 616⁹³. En donde se mencionan las propiedades físico químicas que debe cumplir la leche bovina entera se puede realizar una mención sobre las pruebas que se pueden realizar en la leche para determinar las mencionadas características, esto debido a que es esta norma la que rige actualmente sobre la calidad de la leche en Colombia.

Tabla 5. Tabla comparativa de características físicas y químicas de la leche normal y leches adulteradas.

Tipo de falsificación	Densidad	Grasa	Proteínas	Sólidos Totales	SNF
1. Leche normal	1,0310	3,5	3,4	12,70	9,20
2. Leche y agua	1,0279	3,15	3,06	11,43	8,28
3. Leche y leche con mantequilla	1,0313	3,19	3,37	12,35	9,16
4. Leche y suero	1,0307	3,2	3,16	12,15	8,95
5. Leche, agua y leche con mantequilla	1,0303	2,84	3,03	11,08	8,24
6. Leche, agua y suero	1,0276	2,85	2,82	10,88	8,03

FUENTE. LACTOSAN, Milk falsification

4.5.2. Porcentaje de grasa mínimo. De acuerdo a la guía práctica para la determinación de grasa y sólidos totales en leche y derivados tenemos que: Los métodos utilizados para la determinación de grasa en leche y derivados pueden clasificarse dentro de tres grupos:

1. Métodos volumétricos: que utilizan agentes químicos (ácido sulfúrico, detergentes), para lograr la ruptura de la emulsión, la separación de la grasa y medir consecutivamente la grasa separada en botellas especiales. A este

⁹³ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Op., cit. p. 27.

grupo pertenecen los métodos de Babcock (Herreid 1942), de Gerber (Gerber – Schneider) y aquellos que emplean detergentes tales como la técnica Tesa.

2. Métodos gravimétricos: aquellos que utilizan solventes orgánicos para extraer la grasa, que luego de la evaporación de estos, se determina mediante pesada del extracto graso seco. En este grupo se encuentra el método de Roesse-Gottlied y sus diversas modificaciones entre las cuales se encuentra la de Mojonnier (Mojonnier, Bros 1925).
3. Métodos instrumentales: fundamentados en la determinación de una determinada propiedad de la leche proporcional en algún sentido a su contenido de grasa. Por ejemplo la medición de la turbidez en condiciones controladas en instrumentos como el Milkotest, el Lactronic, etc⁹⁴.

4.5.3 Porcentaje de extracto seco total (sólidos totales). Según el mismo artículo de Internet se afirma que: “El porcentaje promedio de sólidos totales es de 12.7% representados por la grasa en emulsión, las proteínas en solución coloidal, lactosa, vitaminas, sales y otros componentes orgánicos e inorgánicos en solución”⁹⁵.

Más adelante en el mismo artículo de La universidad del Zulia, Facultad de ciencias veterinarias, Departamento de producción e industria animal, Cátedra de ciencias y tecnología de la leche⁹⁶, se mencionan los métodos para la determinación de los sólidos totales como se resaltan a continuación:

- **Métodos gravimétricos.** Cuyo fundamento está en la evaporación del agua de una muestra de peso conocida y el pesaje del residuo seco. En estas técnicas la evaporación puede hacerse por diferentes técnicas como son: 1.) calentamiento preliminar en baño de vapor, seguido de una desecación a 98-100°C en estufa hasta alcanzar un peso constante (Método oficial de la Asociación Oficial de Análisis Químicos); 2.) Evaporación preliminar sobre una placa termoeléctrica hasta la aparición de las primeras trazas de color marrón,

⁹⁴ LA UNIVERSIDAD DEL ZUILA, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN E INDUSTRIA ANIMAL, CÁTEDRA DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA DE LA LECHE. Determinación de grasa y sólidos totales en leche y derivados. Guia practica. p. 3. [en línea]. Pagina Web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: http://members.tripod.com.ve/tecnologia/solidosygrasa_archivos/STyGRASA.pdf

⁹⁵ Ibid. p. 9.

⁹⁶ Ibid. p. 9.

seguido de desecación al vacío a 100°C (Método de Mojonier, 1925); 3.) Calentamiento con una lámpara de rayos infrarrojos o por el calor irradiado de una resistencia eléctrica (Newlander y Atherton, 1964).

- **Métodos volumétricos.** Permiten la determinación del agua contenida en una muestra por técnicas volumétricas, tal como la destilación y subsiguiente medición del agua destilada en un tubo colector graduado, como en el método de destilación con tolueno para analizar leche en polvo.
- **Métodos basados en la medición de una determinada propiedad.** Aquí encontramos los siguientes métodos: 1.) Determinación del peso específico, en donde por fórmulas especiales se puede calcular el porcentaje de sólidos totales como el de sólidos no grasos; 2.) Medición de la absorbancia con infrarrojo, como el Milko-Scan de N. Foss Electric

4.5.4 Porcentaje de extracto seco desengrasado. Esta característica es definida por un artículo de Internet así: “Los S.N.G.L. [siglas para sólidos no grasos lácteos], están compuestos por proteínas (mayoritariamente caseína), lactosa (el azúcar de la leche) y sales minerales (calcio, potasio, fósforo, magnesio, hierro, etc.)”⁹⁷.

En cuanto a la determinación de sólidos no grasos en leche, haciendo mención al método lactométrico se afirma que: “El peso específico de la leche aumenta proporcionalmente con el porcentaje de sólidos no grasos y disminuye a medida que aumenta el contenido de grasa”⁹⁸.

Además se afirma también que: “El aguado y la adición de crema tiende a disminuir esta propiedad, mientras que la separación de la grasa láctea la aumenta”⁹⁹.

⁹⁷ MUNDO HELADO.COM. Los sólidos no grasos lácteos (S.N.G.L) o magros de la leche. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: septiembre 11 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.mundohelado.com/helados/sngl.htm>

⁹⁸ UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA. Control físico-químico de la leche. Julio del 2004. p. 9. [en línea]. Pagina web versión ppt. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: <http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/Control%20fisico%20quimico%20de%20la%20leche.ppt>

⁹⁹ Ibid. p. 9.

Por lo que se da a conocer una fórmula para calcular el porcentaje de extracto seco desengrasado o sólidos no grasos de la siguiente forma:

$$\%ST = 0,25 L + 1,2 G \quad \%SNG = 0,25 L + 0,2 G$$

Donde: % ST: porcentaje de sólidos totales.

 % SNG: porcentaje de sólidos no grasos.

L: lectura lactométrica corregida (60°F o 15,6 °C) en grados Quevenne.

G: porcentaje de grasa.

$$\%SNG=(d-1)1000/4+0.2G+0.14$$

Donde: %SNG= Porcentaje de sólidos no grasos.

D= densidad.

G= % de grasa¹⁰⁰.

4.5.5 Fosfatasa. Según el artículo publicado por la Universidad autónoma de Madrid¹⁰¹, esta es una de las pruebas empleadas para la comprobación del tratamiento térmico al que ha sido sometida la leche, esto mediante la determinación del grado de desnaturalización de las enzimas, en este caso de la fosfatasa.

En el mismo artículo se describe y justifica así:

El método se basa en lo siguiente: el paranitrofenilfosfato es incoloro en solución alcalina, se hidroliza rápidamente por la fosfatasa y el producto de hidrólisis es

¹⁰⁰ Ibid. p. 10-11.

¹⁰¹ UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID, DIPLOMATURA EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA. Prácticas, productos lácteos. 2003. p. 14. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 11 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/mrgarcia/Lacteos-2005/Practicas%20_05-06_.pdf

amarillo. Cuanto mas amarilla salga la disolución hay más fosfatasa sin desnaturalizar.

- Se introduce en tubos de ensayo 5 ml de reactivo y se tapan.
- Se colocan al baño María (37°C) 5 minutos.
- Añadir 1 ml de las muestras.
- Incubar los tubos 30 minutos en el baño.
- Mirar la coloración.

Si aparece color amarillo nos indicaría la presencia de fosfatasa sin desnaturalizar¹⁰².

4.5.6 Peroxidasa. Al igual en el mismo artículo anteriormente mencionado se describe y justifica el análisis de esta enzima de la siguiente forma:

Otra enzima presente en la leche se inactiva cuando los tratamientos son a partir de 80°C unos segundos. La presencia de la peroxidasa se puede detectar por su capacidad de descomposición del agua oxigenada liberando oxígeno atómico capaz de fijarse a una sustancia oxidable como el guayacol dando un producto de oxidación de color marrón.

- Se introduce en un tubo de ensayo 2 ml. de la leche.
- Se añaden 2 ml. de guayacol.
- Se agita.
- Se añade 1 gota de agua oxigenada.
- Se agita y se guarda el tubo en la mano para mantener temperatura.

¹⁰² Ibid. p. 14.

- La reacción es positiva (hay peroxidasa sin desnaturalizar) si aparece un color salmón¹⁰³.

4.5.7 Densidad. En cuanto a esta propiedad física el artículo sobre lácteos de la página de Internet Monografías menciona que:

La densidad de la leche se mide con un lactodensímetro, o pesa-leche, un modelo especial de densímetro, con el vástago graduado de 15 a 40. Cuando flota libremente dentro de la leche, sin tocar las paredes del recipiente, se lee a nivel de la superficie con visual horizontal. Las dos cifras leídas son el milésimo de la densidad y, por tanto, se escriben a continuación de la unidad: 1,0.

Ejemplo:

Lectura en el lactodensímetro: 30

Densidad de la leche, a 15°C: 1,030 g/ml

El control de la temperatura es importante. Una variación de 5°C modifica la densidad en aproximadamente un milésimo. En el ejemplo anterior, si se opera a otras temperaturas, resulta:

- Densidad, a 10°C 1,031 g/ml
- Densidad, a 20°C 1,029 g/ml

Muchos lactodensímetros tienen incorporado un termómetro interno, para establecer la temperatura en el momento de la medición¹⁰⁴.

¹⁰³ Ibid. p. 14.

¹⁰⁴ MONOGRAFIAS.COM. Lácteos. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: agosto 18 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.monografias.com/trabajos6/lacte/lacte.shtml>

4.5.8 Acidez expresada como ácido láctico. Teniendo en cuenta el artículo de la Universidad del Zulia¹⁰⁵, la acidez o acidez titulable posee un cierto nivel de acidez debido al contenido de anhídrido carbónico, proteínas y algunos iones de fosfato y citrato, sin embargo no debe poseer ácido láctico ya que esto es indicio de fermentación bacteriana sobre la lactosa de la leche. Es por esto que esta prueba es un indicador importante para la calidad higiénica de la leche. Se afirma también que existen diferentes métodos para determinar la acidez de la leche dentro de estos encontramos: la titulación con NaOH 0,1 N usando fenoftaleína en solución alcohólica como indicador y cuyo resultado se expresa en término de ml de leche de NaOH 0,1 N requeridos para neutralizar 100 ml de leche; Sistema de expresión en términos de porcentaje de ácido láctico: Grados Soxhlet-Henkel (ml de NaOH N/4 por 100 ml); Grados Dornic (ml NaOH N/9 por 100 ml).

4.5.9 Índice crioscópico. De acuerdo con otro artículo de la Universidad del Zulia¹⁰⁶, los métodos que se aplican para la detección de agua adicionada en leche se basan en la medición de una propiedad física que varía en proporción de la cantidad de agua de la muestra, en este caso el punto de congelación que donde deriva el método o índice crioscópico.

En este artículo explica también el principio del método para determinar su respectivo índice afirmando que:

El punto de congelación del agua a presión normal a nivel del mar (760 mmHg), es de 0,000 °C. al disolver en ella una sustancia (soluto), se obtiene una solución cuyo punto de congelación es inferior al del solvente puro. La diferencia entre los puntos de congelación de la solución y la del solvente puro, se denomina

¹⁰⁵ LA UNIVERSIDAD DEL ZUILA, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN E INDUSTRIA ANIMAL, CÁTEDRA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA LECHE. Introducción al control de calidad de la leche cruda, Guía práctica. 2003. p. 11. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: http://members.tripod.com.ve/tecnologia/Introduccion_archivos/Introduccion.pdf

¹⁰⁶ LA UNIVERSIDAD DEL ZUILA, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN E INDUSTRIA ANIMAL, CÁTEDRA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA LECHE. Determinación de adulteración de la leche con agua, cloruros y sacarosa, Guía práctica. 2002. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.lactologia.org/Documentos/Adulteraciones.pdf>

descenso crioscópico y es directamente proporcional a la concentración del soluto en solución¹⁰⁷.

En cuanto al mismo tema y hablando sobre los análisis de calidad en leche en el artículo de Zavala P. se afirma que: “El punto de congelación de la leche es medido para detección de agua agregada (crioscopia). [...] Los instrumentos arrojan valores en °H (Grados Hortvet) o en °C (Grados Centígrados). Las fórmulas de conversión pueden sustituir un sistema por otro”¹⁰⁸.

4.5.10 Ekomilk. Según los Laboratorios Tuteur¹⁰⁹, este analizador de leche, basado en los principios del ultrasonido, está diseñado para el análisis rápido y de bajo costo del contenido de grasa (rango: 0,5% - 9%, con una precisión de +/- 0,5%); sólidos no grasos (rango: 6% - 12%, con una precisión de +/-0,2%); Densidad (rango: 1,0260 g/cm³ - 1,0330 g/cm³, con una precisión de +/-0,0005 g/cm³); Proteínas (rango: 2% - 6%, con una precisión de +/-0,2%); Agua agregada a la leche (rango: 0% - 60%, con una precisión de +/-5%). Todos estos parámetros se pueden medir en la leche de diferentes especies como lo son los bovinos, ovinos, bufalinos y caprinos. Dentro de las características del equipo podemos mencionar, un diseño simple y liviano, bajo costo de operación, consumo de baja potencia, requiere una muy pequeña cantidad de leche, no son usados ácidos u otros compuestos químicos, el usuario puede hacer ajustes en la precisión de la medición.

4.6 PRINCIPALES GRUPOS DE MICROORGANISMOS QUE SE ENCUENTRAN EN LA LECHE.

4.6.1 Bacterias Gram +. Se puede distinguir en la leche la presencia de bacterias principalmente las bacterias Gram-.

¹⁰⁷ Ibid. p. 4.

¹⁰⁸ ING. MAST. CIENCIA ZAVALA POPE, José Mauricio. Aspectos nutricionales y tecnológicos de la leche. 2005. p. 28. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: marzo 20 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.minag.gob.pe/dgpa1/ARCHIVOS/agroin_doc2.pdf

¹⁰⁹ TETUR, Laboratorios. Ekomilk milkana, analizador integral de leche. 2005. p. 1-2. en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: agosto 4 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.tuteur.com.ar/files/productos/3_1_EKOMILK_Mal_de_leche.pdf

- **Bacterias Lácticas.** Las bacterias más importantes, en los productos lácteos, tanto por sus actividades bioquímicas como por su número (proporción en la microflora total y frecuencia en los exámenes), son aquellas que fermentan la lactosa dando una proporción elevada de ácido láctico en los productos de degradación y que sólo son débilmente proteolíticas. Pertenecen a la familia Lactobacteriaceae.
- **Micrococos y Staphilococos.** Los micrococos son aerobias (hay algunas variedades anaeróbicas); no fermentan la glucosa, sino que la degradan de forma oxidante sin provocar más que un débil descenso del pH. Los micrococos no son patógenos; están desprovistos de las dos armas habituales de la infección: la coagulasa y la hemolisina.

Los micrococos forman parte de la flora innocua que contamina la leche, y se encuentran frecuentemente después del ordeño. Por presentar una temperatura óptima bastante elevada (37°C) y por sus actividades enzimáticas reducidas, tiene poca importancia en los problemas referentes a la conservación y tratamiento de la leche.

Los Staphilococos son anaerobios facultativos que provocan una fermentación de la glucosa con un descenso acusado del pH (hacia 4.3-4.5); producen acetoina. Este género comprende dos grupos: el más importante Staphilococos pyogenes, que contiene bacterias parásitas que poseen una coagulasa y una o varias hemolisinas; se designan también el Staphilococos aureus y albus importantes desde el punto de vista de la higiene.

- **Bacterias esporuladas (Bacillaceae).** Son las únicas que forman una endospora, que tiene la importante propiedad de resistir temperaturas elevadas. Mientras otras bacterias se destruyen generalmente por debajo de los 80°C, las esporuladas solo mueren por encima de los 100°C; muchas bacterias son mesófilas, es decir, que se desarrollan a unos 30°C y se inhiben a temperaturas superiores a 45°C.

Las bacterias esporuladas no suelen presentarse en la leche cruda y en los productos lácteos que no se han calentado. Por el contrario son responsables de la alteración de las leches hervidas o insuficientemente esterilizadas, de los quesos fundidos, de los quesos de pasta cocida, de las leches concentradas.

4.6.2 Bacterias Gram-.

4.6.2.1 Enterobacterias. La mayor parte de las enterobacterias son huéspedes normales del intestino de los mamíferos; su presencia en la leche puede atribuirse a una contaminación fecal.

Las enterobacterias tienen una gran importancia desde dos puntos de vista:

Higiénico: Varias especies de esta familia son responsables de graves enfermedades infecciosas, que pueden adquirir carácter epidemiológico, ejemplo las salmoneras atribuyen infecciones gastrointestinales a otras especies.

Tecnológico: La propiedad bioquímica dominante de las enterobacterias es la fermentación de los azúcares con formación de gas (carbónico, hidrógeno) y ácido.

El término “Bacterias coliformes” se utiliza para designar a las enterobacterias más frecuentes encontradas en los productos lácteos.

- **Escherichia.** E. Coli con algunas variedades de caracteres antigénicos diferentes. Es el único productor de indol del grupo. Produce mucho gas y ácidos orgánicos (láctico, acético, succínico); sin embargo es menos acidificante que las bacterias lácticas. La E. coli reduce los nitratos a nitritos; en presencia de nitratos, la producción de gas es reducida.

- **Enterobacter.** Igualmente es productor de gas pero origina una débil acidificación; por el contrario produce una sustancia neutra, la acetoina. Estas bacterias no son patógenas, sin embargo algunas cepas se consideran sospechosas.

- **Klebsiella.** Son inmóviles y encapsuladas; comprende cepas saprófitas y cepas patógenas.

- **Citrobacter.** Son especies inofensivas presentes en la materia fecal.

4.6.2.2 Achromobacteriaceae. Contiene bacterias saprófitas, aeróbicas, que no fermentan azúcares. No coagulan la leche, que puede volverse alcalina. Ninguna especie es sospechosa desde el punto de vista higiénico.

4.6.2.3 Bacterias Gram- diversas.

- **Pseudomonas.** La leche contiene gérmenes pertenecientes a esta familia, transportados principalmente por aguas impuras. Forman parte igualmente de la microflora psicrófila; son nocivos a causa de sus actividades proteolíticas lipolíticas.
- **Brucella.** Bacterias patógenas para el hombre y animales agentes causales de la brucelosis.

4.6.3 Principales grupos de hongos que se encuentran en la leche

4.6.3.1 Levaduras. En la leche cruda suelen encontrarse células voluminosas, esféricas u ovaladas, de levaduras no esporulantes que pertenecen al género.

- **Cándida.** Estas levaduras producen gas y poco o nada alcohol. En condiciones naturales no se manifiestan en la leche; excepcionalmente son causa de la “leche espumosa”, también pueden encontrarse en la leche levaduras esporulantes, como el *Saccharomyces fragilis* y el *S. lactis* que fermentan la lactosa, con producción de alcohol.

4.6.3.2 Mohos. No tiene importancia práctica en la leche líquida; por el contrario la tienen, y en un alto grado, en la mayor parte de productos lácteos; se desarrollan en la superficie y en las partes en contacto con aire.

4.6.4. Microorganismos de origen mamario. A la salida de la mama sana, aún tomándose rigurosas precauciones de asepsia, es difícil obtener una leche estéril, por menos en las vacas. En el interior de la mama existen casi siempre gérmenes que contaminan la leche en el momento de la recogida.

Se ha sugerido la existencia de una relación entre la presencia de gérmenes en la mama y su anatomía; así, un esfínter del pezón en buen estado constituirá una barrera contra la infección. Es difícil medir la abertura real del pezón, pero puede compararse la velocidad del ordeño y el contenido microbiano de la leche recogida; cuanto más rápido es el ordeño, más susceptible a la infección es la mama.

La primera leche que se extrae de la mama es siempre la más infectada. El número de gérmenes decrece a lo largo del ordeño. Al principio de éste, la leche lava y expulsa de los conductos los gérmenes más fácilmente desplazables.

La penetración de gérmenes en la mama tiene lugar de dos modos:

- Por vía ascendente, a través del canal del pezón; es el camino más frecuentemente seguido por los gérmenes inocuos y algunos patógenos.
- Por vía endógena, algunos gérmenes patógenos pueden llegar a la mama por la circulación sanguínea, por ejemplo, los de la tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) y de la brucelosis (*Brucella abortus*).

4.6.5. Contaminación de la leche en el exterior de la glándula mamaria. Los principales orígenes de contaminación son:

- **El ambiente.** La atmósfera de los establos está más o menos cargada de gérmenes procedentes de los excrementos, de la paja y de los alimentos; éstos son transportados con el polvo, que se deposita poco a poco.

Los alimentos groseros como heno y la paja aportan sobre todo gérmenes esporulados: bacilos y clostridios. Los ensilados aportan bacterias butíricas perjudiciales para la quesería. Los excrementos son ricos en gérmenes variados, y constituyen la principal fuente de enterobacterias nocivas, como *E. coli*.

- **El estado del animal.** Las suciedades que se encuentran en la leche proceden frecuentemente de la caída, en el momento del ordeño, de partículas de excrementos, tierra, vegetales y cama, adheridos a la piel del animal, así como también de pelos y células epiteliales. Todas estas partículas transportan

bacterias, que esta manera ingresan en la leche, sobre todo durante el ordeño manual y con el uso de recipientes de gran abertura.

Las partículas de estiércol se disuelven mucho mejor en la leche tibia que en el agua; al disolverse liberan las colonias de gérmenes que contienen.

- **El estado del ordeñador.** No es indiferente; el ordeñador sucio, con ropas cargadas de polvo y suciedades. Es preciso también tener en cuenta la salud del ordeñador.
- **Los utensilios y máquinas.** Son habitualmente la fuente de contaminación más importante. Son millares de gérmenes que pueden existir sobre las paredes de los utensilios lecheros mal lavados y mal secados: bacterias de la microflora sacrófila; bacterias lácticas.
- **La calidad del agua.** Tiene una gran importancia las aguas impuras empleadas en el lavado de los recipientes y máquinas pueden ser la causa de contaminaciones muy perjudiciales.¹¹⁰

4.6.6. Alteraciones que causan las bacterias en la leche La leche tiene un alto valor nutritivo que permite el crecimiento de innumerables microorganismos que se traduce generalmente en alteraciones del color, sabor y aspecto. En ocasiones se debe a sustancias extrañas que pasan a la leche a través del animal: aflatoxinas (cancerígena), antibióticos, pesticidas. En otros casos se debe a la alimentación del animal (si come un poco antes del ordeño tendrá sabor a forraje). Los cambios en el sabor también pueden ser debidos a los recipientes. Pueden presentar también alteraciones microbianas como consecuencia de la actividad enzimática.

- **Alteración microbiana.** La leche no es un alimento estéril, contiene microorganismos y es un buen sustrato para su desarrollo (en especial los formadores de ácido láctico). Los microorganismos están presentes en la naturaleza manteniendo el equilibrio ecológico y algunos de estos tienen la capacidad de producir enfermedades en el hombre, los animales y las plantas.

¹¹⁰ ALAIS, Charles. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. editorial continental, S.A de C.V., México. P 17- 235

La leche cruda se puede contaminar:

- Durante el ordeño cuando no se realiza una buena práctica de higiene de los pezones y de las manos de los ordeñadores, así como cuando se utilizan equipos de ordeño sucios o el ambiente del ordeño es inadecuado.
- En el interior de la glándula mamaria sana de la vaca puede encontrarse un número de bacterias que puede contaminar los primeros chorros de leche, por lo que estos siempre deben desecharse.
- Estos microorganismos tienen la capacidad de multiplicarse y ocasionar un caso de mastitis clínica y/o subclínica, en la que un solo pezón afectado puede contaminar toda la leche producida en el hato.

Por estas razones es importante contar con lugares limpios para el ordeño, hacer lavado de manos del ordeñador, asear y secar los pezones antes del ordeño, lavar y desinfectar el equipo de ordeño y diseñar e implementar un programa de saneamiento (limpieza y desinfección) de todos los implementos que se utilizan en un ordeño.

- **Multiplicación de los microorganismos.** Los componentes principales de la leche son el agua, las proteínas (caseína), las grasas, triglicéridos, ácidos grasos saturados, colesterol, fosfolípidos, lactosa y vitaminas liposolubles (A, D).

Cuando se habla de crecimiento bacteriano se hace referencia a la multiplicación de las bacterias en el cual cada vez que una población se multiplica se duplica su número. Una leche obtenida en las mejores condiciones de limpieza e higiene puede contener hasta 2000 bacterias/ml – cc, por lo que si no se maneja de forma adecuada en su almacenamiento, transporte y distribución puede aumentar progresivamente hasta 4.096.000/ml – cc en once generaciones, cuando la leche es agria se corta y su prueba de acidez es positiva.

Una leche obtenida en un ordeño con deficiencias de aseo y desinfección puede contener 128.000 bacterias/ml – cc por lo que para alcanzar el número de 4.096.000/ml – cc solamente necesitara cuatro generaciones que significa aproximadamente cuatro horas a 20°C.

Se calcula que las bacterias de una leche almacenada a 30°C producen una nueva generación o se multiplican cada 20 minutos. A 20°C cada hora, a 10°C entre tres y cuatro horas y a 5°C cada 12 horas. La refrigeración detiene el crecimiento de las bacterias pero no produce su muerte.

4.6.7 Tipo de Bacterias. La mayoría de las bacterias se multiplican a temperaturas medias (20 – 30°C) y su crecimiento se suspende cuando los alimentos se refrigeran de 2 – 4°C. Sin embargo, cuando se rompe la cadena de frío y los alimentos vuelven a temperatura ambiente los microorganismos se multiplican rápidamente.

Las bacterias pueden multiplicarse a diferentes temperaturas cuando lo hacen a temperatura ambiente se llaman mesófilas, a temperaturas altas termófilas y cuando crecen en refrigeración se denominan psicrófilas.

Las bacterias producen cambios en las características de la leche como:

- Sabor: lactobacillus y streptococcus lactis producen la acidificación de la leche; coagulación de la caseína y aparece un sabor ácido debido a la desnaturalización de la leche.

Las bacterias psicrófilas pueden coagular la caseína sin producir acidificación, serían el Bacillus subtilis y el Proteus vulgaris.

- Color: la Pseudomona synxantha produce coloración amarilla, Pseudomona cyanogenes coloración azul y bacillus lactis erithrogenes coloración roja.
- Aspecto: el desarrollo de micrococcos y bacilos aumentan la viscosidad de la leche modificando su aspecto.
- Olor: los cambios en el olor se deben principalmente a la desnaturalización de las grasas, llamado comúnmente enranciamiento; también se puede presentar en el almacenamiento de la leche con otras sustancias de fuerte aroma.

La leche tiene una vida útil muy reducida. Por esta razón forzosamente debe someterse a métodos de conservación, como la pasteurización que prolonga la vida útil en 36 horas. Con esto se consigue: destrucción de gérmenes que causan enfermedades (patógenos) y mejoramiento de su estabilidad (siendo estos dos los fines prioritarios).¹¹¹

4.6.8. Determinación de la calidad microbiológica en la leche cruda. PINZON, 1995, en su trabajo anota que para el análisis de la leche cruda existen diferentes métodos que permiten medir de manera indirecta o directa su calidad sanitaria.

4.6.8.1 Método indirecto se fundamentan en la modificación de algunas propiedades por parte de los microorganismos. Dentro de este grupo están la determinación del sedimento (lacto filtración), temperatura, pH, acidez titulable, lacto fermentación y las pruebas de reducción de colorantes (azul de metileno, resazurina).

- **Sedimento.** el sedimento obtenido por el método de lacto filtración mide la calidad sanitaria. La presencia de abundantes partículas de sucio y su tipo (heces, insectos, tierra, restos de alimentos), puede indicar el cuidado que se ha tenido durante el ordeño y almacenamiento de la leche cruda.
- **Lacto fermentación.** esta prueba permite observar las características del coagulo obtenido de la fermentación de una muestra de leche incubada a temperatura ambiente (35-37 °C) por 24 horas. Según las características observadas se puede presumir acerca del tipo de bacterias predominantes, ya que un coagulo homogéneo sin o con pequeñas burbujas de gas, indicara predominio de bacterias lácticas homo fermentativas, por el contrario un coagulo grumoso con abundante gas puede indicar la presencia de bacterias coliformes.
- **Tiempo de reducción-TRAM.** esta prueba se fundamenta en como por el metabolismo microbiano hace variar el potencial de óxido reducción de la leche, para ello se utiliza como indicador el azul de metileno.

¹¹¹ CONSEJO NACIONAL DE CALIDAD DE LECHE Y PREVENCIÓN DE MASTITIS. Guia técnica para la obtención de lache de calidad.. Tercera edición. Julio 2008. Colombia.

4.6.8.2 Método indirecto se fundamentan en determinar la presencia y/o el número de microorganismo en los alimentos. En el análisis de la leche cruda se emplean los siguientes:

- **Recuento Microscópico Directo.** el recuento microscópico directo es una técnica que tiene poco uso en el análisis de la leche cruda. En el se analiza un frotis de una muestra diluida la cual se colorea con un colorante especial (Newman Lambert), y se hace recuento de las células bacterianas observadas en varios campos. El promedio del conteo se multiplica con el factor del microscopio (valor relacionado al área del frotis, el diámetro del objetivo y la dilución de la muestra) para obtener el número de bacterias por mililitro de muestra. Se debe tener en cuenta que en el conteo intervienen las células vivas y las muertas.
- **Recuento Estándar en Placa (REP).** también conocido como recuento de aerobios mesófilos, es el análisis directo mayormente empleado para determinar la calidad microbiológica de la leche y otros alimentos. El método consiste en hacer diluciones de la muestra y sembrar en placas de petri con agar estándar; luego de 24 a 48 horas de incubación a $37 \pm$ se cuentan las colonias observadas las cuales permiten obtener el número de unidades formadoras de colonias por mililitro o gramo de muestra (ufc/mL o ufc/g). Los resultados obtenidos siempre son inferiores a los reportados con el recuento directo, ya que aquí solo intervienen microorganismos vivos capaces de formar colonias, además una colonia puede estar originada por uno o más de una unidad formadora de colonias.
- **Recuento de Bacterias mesófilas, Termófilas, Psicrófilas.** cuando se desea determinar los tipos microbianos presentes en la leche se utilizan análisis específicos. Usando el método del REP pero variando la temperatura de incubación se pueden seleccionar los diferentes grupos de bacterias según su temperatura óptima de crecimiento.
- **Coliformes Totales, Coliformes Fecales, Número más Probable (NMP).** Su determinación puede hacerse en placas con agar rojo bilis cristal violeta (coliformes totales) o en tubos con caldo verde brillante (NMP), donde además se puede observar la acumulación de gas.

4.6.8.3 Pruebas Específicas

- **Determinación de Salmonelas, Staphylococcus.** ciertas especies bacterianas tienen especial interés en alimentos, especialmente por su poder patógeno. En leche en polvo se exige la determinación de Salmoneras y en productos lácteos es conveniente hacer determinaciones de estafilococos específicamente *Staphylococcus aureus*.

Además de los análisis mencionados anteriormente existen otros especiales que se relacionan con la calidad sanitaria.

- **Tiempo de Reducción de Azul de Metileno.** “TRAM” antiguamente llamado Reductasa. el procedimiento que se usa para su montaje: En un tubo se vierten 20 ml de leche a examinar y se agrega 1 ml. de una solución estandarizada de Azul de metileno. Inmediatamente la mezcla se torna azul, el tubo se coloca en un baño de maría a 37 °C y se inicia el control del tiempo con lecturas cada 30 minutos; cuando el tubo cambie de color a blanco.

Anotando el tiempo que demoró este cambio y el resultado se expresa en horas o fracción de media. Cada media hora se revisan los tubos y cuando haya cambiado de color de azul a blanco se determina el tiempo que demoró este cambio y se expresa en horas o fracción de media. Para explicar esta reacción es necesario hacer las siguientes consideraciones:

- El colorante azul de metileno el cual es un indicador de oxidoreducción, es azul cuando está oxidado e incoloro cuando está reducido.
- Varias especies de bacterias, no todas las que pueden contaminar la leche, tienen la capacidad de secuestrar el oxígeno presente en el medio y por lo tanto generar la reducción del azul de metileno con la consecuente pérdida del tono azul.
- Básicamente la velocidad con la cual se reduce el azul de metileno depende del número de microorganismos que tienen el efecto reductor, es decir que a mayor número de bacterias con esa propiedad, menor será el tiempo necesario para que se produzca el cambio de color en el tubo. Esto es lo que comúnmente se describe en bacteriología como un recuento metabólico

indirecto. Internacionalmente la tabla de interpretación del TRAM se relaciona con las siguientes recuentos de bacterias /mL.

Tabla 6. Interpretación del TRAM

TRAM (minutos)	No Bacterias /mL.
< 30 minutos	20 - 30 millones
30 min - 2 horas	4 - 20 millones
2 - 6 horas	0,5 - 4 millones
> 6 horas	< 500.000

Fuente: PINZON FERNANDEZ. Op., cit. Disponible en Internet:http://members.tripod.com.ve/tecnologia/Introduccion_archivos/Introduccion.pdf93

Es importante tener en cuenta el hecho de que un gran número de bacterias que hacen parte de la contaminación de la leche durante el ordeño tienen poca actividad reductora del azul de metileno y los números de bacterias para un determinado TRAM se ven incrementado en forma muy significativa, en aquellos ordeños donde las prácticas de higiene son deficientes.

En la investigación consignada en la tesis de grado de la Universidad Javeriana "Actividad de microorganismos en leches crudas de la sabana de Bogotá y su relación con la prueba TRAM" bajo la dirección de Blanca Cecilia Gaviria, donde se examinaron 397 muestras de leche para prueba de acidez, TRAM, Recuento de bacterias mesófilas Aerobias y Recuento de Termofílicas, que llegaron a una planta pasteurizadora en la sabana de Bogotá se muestran variaciones más amplias con relación a la tabla estandarizada. Los hallazgos en esta investigación muestran la siguiente tabla:

Tabla 7. Variación de resultados con relación a la tabla estandarizada

TRAM (minutos)	Rcto. Mesófilos aeróbios (UFC)
< 30 min	> 600 millones
30 min - 1 hora	100 - 600 millones
1 - 2 horas	25 - 100 millones
2 - 3 horas	10 - 25 millones
3 - 4 horas	5 - 10 millones
4 - 5 horas	3 - 5 millones
5 - 6 horas	2 - 3 millones
6 - 7 horas	1.5 - 2 millones
7 - 8 horas	1 - 1.5 millones
8 - 9 horas	800.000 - 1 millón

Fuente: PINZON FERNANDEZ. Op., cit. Disponible en Internet:http://members.tripod.com.ve/tecnologia/Introduccion_archivos/Introduccion.pdf#93

Como se puede observar mientras que en la tabla internacional, 6 horas de TRAM significan menos de 500.000, en nuestro medio ese mismo tiempo corresponde aproximadamente a 2 millones de bacterias. Estas grandes diferencias se originan en la diversidad de fuentes de contaminación a que se ve sometida la leche cuando fallan las prácticas de higiene y se facilita la contaminación con microorganismos provenientes del intestino de los animales, que en general tienen muy poca actividad reductora, comparativamente con bacterias de los géneros *Streptococcus* y *Lactobacillus* que son habitantes normales de la glándula mamaria y que a través de ella pueden llegar a la leche.

Basados en la actividad metabólica de los diferentes microorganismos que pueden contaminar la leche, la prueba TRAM puede castigar leches que tienen poca contaminación ambiental pero con presencia de bacterias con gran capacidad reductora, como las mencionadas, y de otra parte favorecer al leches con alto número de bacterias contaminantes ambientales producto de ordeños antihigiénicos pero que demoran mucho en reducir el azul de metileno.

Otra razón para tener largo tiempo de TRAM frente a un alto número de bacterias es, que la leche examinada contenga sustancias que inhiban el crecimiento bacteriano, por ejemplo, preservantes químicos o antibióticos, compuestos que cuando se está haciendo el Recuento en Placa, por el factor de dilución a que se somete la muestra, pierden actividad o capacidad inhibitoria.

El hecho de tener cortos tiempos de TRAM y Recuentos bajos de bacterias, es posible cuando varias células bacterianas se encuentran agrupadas y una Colonia (UFC) es el resultado de uno de estos grupos o de una sola célula. Por esto en los recuentos de Bacterias Mesófilas se usa el término Unidades Formadoras de Colonia (UFC). En la Prueba de TRAM el hecho de que las bacterias estén agrupadas o separadas no influye porque independientemente cada célula cumple su acción metabólica.

Por todas las razones que se han comentado, la prueba TRAM tiene muy poca capacidad para evaluar el número real de microorganismos presentes en leche cruda, y es así como cada día es menos utilizada en la industria para tal efecto. Si el Acuerdo de Competitividad existente en Colombia contempló esta posibilidad como criterio de calidad higiénica.¹¹²

5. DISEÑO METODOLÓGICO.

5.1. LOCALIZACIÓN

Según Fajardo, R. y Cifuentes, J. la capital del Departamento de Nariño, esta localizada a 1° 13' de latitud norte, 77° 17' de longitud oeste de Greenwich. La altura sobre el nivel del mar es de 2527 m, con una temperatura media de 14°C y precipitación media anual de 841 mm. Distante entre 795 kilómetros al sur de la capital de la república y a 85 kilómetros por la vía panamericana de la frontera ecuatoriana¹¹³.

¹¹²PINZON FERNANDEZ Alfredo. Determinación del índice de bacterias mesófilas aerobias presentes en la leche cruda versus leche pasteurizada que se comercializan en la zona urbana de la ciudad de Popayán. Popayán, 2006. 141p. trabajo de grado (Zootecnista). Universidad Nacional. Facultad de ciencias Agrarias. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: mayo 10 de 2008]. Disponible en Internet: http://members.tripod.com.ve/tecnologia/Introduccion_archivos/Introduccion.pdf

¹¹³ FAJARDO, Rosita y CIFUENTES, Jorge. Diccionario Geográfico de Colombia. Santa Fe de Bogotá D.C.: Instituto geográfico "Agustín Codazzi". P. 350.

5.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

Según la dirección municipal de salud de la alcaldía de San Juan de Pasto se tienen reportados 22 establecimientos que expenden leche cruda (cuadro 4).

Cuadro 4. Establecimientos que expenden leche cruda

Establecimiento	Dirección	Propietario – Representante legal
Expendio de leche Patricia	CI 11 N°24 - 73	Patricia champutis
Expendio de leche cruda y nata	CI 22 N°23 - 29	Dario timaran
Expendio de leche Beatriz	Kra 16 N°13 - 26	Beatriz Mora
Expendio de leche luz	Kra 15 N°18 - 32	luz Angelica Delgado
Expendio de leche cruda Cecilia	CI1 8N°37-16	Cecilia de Fajardo
Expendio de leche la estancia	Kra 37 N°18 -107	Miriam Portilla de Santacruz
Expendio de leche Ana	CI15N°26-55	Ana Maria Ramos Ordoñez
Expendio de leche rica leche	Kra 24a N°4 - 92	Jorge Santacruz
Expendio de leche Blanca	CI 8 N°22F - 22	Blanca Pola Moncayo
Expendio de leche Rosa	Kra 23 N°9 - 07	Rosa Mirand a
Expendio de leche Esperanza	Kra 12 N°20 - 11	Esperanza Paz de Fajardo
Expendio de leche Mario	Kra 1e N°21c - 04	Mario Erazo López
Expendio de leche cruda	Mz 9 Cs 17 Villafiori	Esperanza Medina
Expendio de leche Maria	CI 18b N°Cs 214	Maria leonila Melo

Expendio de leche Teresa	Local 147 Mercado Tejar	Teresa de Jesus Delgado
Expendio de leche madrigal	Kra 32c N° 17 - 59	Luis Peñafiel
Expendio De Leche Cruda Illa	Dg 160 N° 1 - 57	Illa Del Socorro Burbano
Expendio De Leche Cruda Socorro	Kra 6 N° 19a - 48	Socorro Chañag
Expendio De Leche Cruda Maria Villota	Kra 4 N° 12 - 32	Maria Villota
Expendio De Leche La Castellana	Kra 30 N° 13a - 03	Esperanza Loaiza
Expendio De Leche San Vicente	Kra 36 N° 5 - 53	Bertha Llgia Argoty
Expendio De Carne Jose	Mz 4 Cs 1 Villas Del Norte	Jose Dimas Criollo

Cuadro 5. Vehículos transportadores de alimentos (Transporte de leche y derivados) reportados ante la dirección Municipal de Salud, Alcaldía Municipal de Pasto.

#. Ficha	Transportador	Placa	Barrio – Vereda
6	Luis Pantoja	SBN 139	Catambuco centro
7	Arnulfo Luis Coral	PSK 172	Catambuco centro
8	Cesar Enrique Jojoa López	VSA 182	Catambuco centro
9	Mercedes López	MDC 520	Catambuco centro
10	Miguel Hernández	SDM 238	Catambuco centro
11	Carlos Fernando Trejo	SDO 126	Catambuco centro
12	Bernardo Chávez	CEN 235	Catambuco centro
13	Jesús Alirio García Ch.	NVE560	Catambuco centro
15	Darío Ramiro López	CBK 793	Catambuco centro
16	Miriam Cuaran	VAQ 403	Catambuco centro
17	María Felicita Cuasquer	SDL 731	Catambuco centro
18	Eliecer Fajardo	SDK 614	Catambuco centro

19	Segundo Obando	SVC 748	Catambuco centro
20	Segundo Sergio Ordoñez	SDL 214	El Dorado
21	Flor Alba Insuasty	NPC 553	Catambuco centro
22	Segundo Sergio Ordoñez	SDM706	El Dorado
23	Segundo Sergio Ordoñez	VSI 643	El Dorado
24	Miriam Cuaran	OVJ 646	Catambuco centro
25	Carlos A de La Cruz	PLL 138	Catambuco centro
26	Percides Cadena	SDM 205	Catambuco centro
27	María verónica Villota	LLC 168	Catambuco centro
28	Claudia Patricia Miaramag	ELF 485	Catambuco centro
30	Luis Figueroa	NUH 569	Catambuco centro
31	Carlos Alberto Tapia	SDL 113	Ninguno
32	Segundo P Rivera	USA	Catambuco centro
33	Jesús Rafael Madroñero	MVB 945	Catambuco centro
34	Gloria María López de Yanguatin	IVQ 360	Genoy centro
35	Laura Cecilia Fajardo de Fajardo	NVE 231	Ninguno
36	Eulalia Margoth Pejendino	SDP 735	Catambuco centro
37	Sergio Ordoñez	SDO 557	El Encano centro
38	Transito Jaramillo	SDO 623	Catambuco centro
39	Pablo Gomajoa	NEE 559	El Encano centro
40	Víctor José Paz Chamorro	CAH 236	Catambuco centro
41	Flor Alba Insuasty	HHE 443	Catambuco centro
42	Salvador Escobar	NVS 455	Catambuco centro
43	Salvador Escobar	SDO 432	Catambuco centro
44	Salvador Escobar	SDO 725	Catambuco centro
45	Graciela Batavanchoy	HOA 068	Genoy centro
46	Salvador Escobar	AUP 146	Catambuco centro
47	Salvador Escobar	AUO 532	Catambuco centro
48	Salvador Escobar	SDC 998	Catambuco centro
49	Liliana Lorena Gonzales	TDM 372	Catambuco centro
50	Arnulfo Coral	PSK 172	Catambuco centro
51	Alejandro D Portilla Rios	EWO 262	Catambuco centro
52	Nelson Alirio Erazo Pantoja	CBW 148	Genoy centro
53	Gladis Lucero	HMD 911	El Encano centro
54	Jorge Orlando Lasso Herrera	SDK 878	Catambuco centro
55	Olga Montenegro	SDK 664	Catambuco centro
56	Fernando Chiran	NUH 481	Catambuco centro

5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para calcular el tamaño de la muestra se aplicó la siguiente formula:

$$n_0 = \frac{z^2 \times p \times q}{d^2}$$

Donde:

Z= valor asociado al valor de confianza establecida.

p = prevalecía estimada del 50%.

q = 1-p.

d = error máximo admitido para estimar la tasa de prevalecía = al 10%.

Teniendo en cuenta lo anterior y con un nivel de confianza del 95% el tamaño de muestra de la investigación fué:

$$n_0 = (1.96)^2 \times 0.5 \times 0.5 / 0.01$$

$$n_0 = 3.84 \times 0.5 \times 0.5 / 0.01$$

$$n_0 = 96 \text{ numero de muestras}$$

Se tomó 4 muestras de cada expendio y las 12 muestras restantes fueron tomadas al azar, con una diferencia de 1 semana por muestra.

Nota: Al no encontrarse datos de presencia de residuos de antibióticos en leche cruda o de estudios similares, se tomara como base el 50% teniendo en cuenta que la muestra tiene la misma probabilidad de ser positiva o negativa.

5.4 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

- Ho: $\pi = 0,50$ (La presencia de residuos de antibióticos betalactámicos en leche cruda mediante prueba de Delvotest en el área urbana del municipio de Pasto es igual a 50%).
- H₁: $\pi \neq 0,50$ (La presencia de residuos de antibióticos betalactámicos en leche cruda mediante prueba de Delvotest en el área urbana del municipio de Pasto, es diferente a 50%).

5.5 TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Se tomó las muestras de leche cruda en todos los establecimientos que legalmente están autorizados a intervalo de una semana, la leche se tomó en frascos de icopor 500ml se colocaron en una caja de icopor para transporte refrigerado.

Las pruebas para determinar las características fisicoquímicas y residuos de antibióticos se realizaron en el laboratorio de patología de la clínica veterinaria Carlos Martines Hoyos de la Universidad de Nariño.

Las pruebas de reductasa se realizaron en el laboratorio de fisiología de la universidad de Nariño.

Se realizó un análisis estadístico, teniendo en cuenta los parámetros de la estadística descriptiva.

Se adquirieron semanalmente veintidós (22) muestras de leche cruda, durante cuatro (4) semanas y doce (12) muestras en una semana más, en las siguientes fechas 15, 22, 29 de octubre , 5 y 12 de noviembre del 2007; esto en diferentes establecimientos donde eran comercializadas. Las bolsas fueron transportadas en una caja de icopor para transporte refrigerado y se llevaron al sitio acondicionado para llevar a cabo las pruebas, en este caso a las instalaciones del laboratorio de patología de la clínica veterinaria Carlos Martínez Hoyos de la Universidad de Nariño.

Se realizó un análisis estadístico, por medio del programa informático Statgraphics, por medio del cual se realizó una tabulación cruzada y un contraste de Chi cuadrado. También se realizaron las pruebas de ANOVA.

5.6 EQUIPOS Y UTENSILIOS

Blusas blancas.

Guantes de látex para la manipulación de las muestras y realización de las pruebas.

Caja de icopor para el transporte de las bolsas de leche.

Refrigerante para conservar las muestras en refrigeración.

Marcador indeleble

Vasos desechables

Tijeras

Termómetro.

Cronómetro.

Agua destilada

Jeringas de 20 ml

Jeringas de 10 ml

Kit Delvotest SP – NT.®

Incubadora MIC - 12.

Recipiente plástico para procesamiento de la muestra para Ekomilk

Papel absorbente

Embolo plástico para la limpieza manual del Ekomilk

Detergente Ekoweek para limpieza ekomilk

Termo

Baño maría

Ekomilk M

22 tubos de ensayo

1 frasco de reactivo azul de metileno

Libreta

Bolígrafos

5.7 TÉCNICA DE LABORATORIO

5.7.1 Preparación de las muestras. Posteriormente a la adquisición y transporte de las muestras hasta las instalaciones designadas para llevar a cabo las pruebas del trabajo de instalación, se realizó el siguiente procedimiento: Se rotuló cada uno de los vasos de icopor con números del 1 al 22 serie para identificar las muestras de cada establecimiento con el marcador indeleble.

5.7.2 Delvotest®. Para la realización de la prueba con Delvotest, se realizó un precalentamiento automático de la incubadora MIC – 12, terminado el precalentamiento se procedió a homogeneizar cada una de las muestras con un agitador de cristal, después de homogeneizadas las muestras se procedió a recortar las ampollitas por separado que contenían el cultivo con el que se realiza la prueba para Delvotest®, una vez recortada cada una de las ampollitas, se acopló la jeringa de succión con capacidad de 1 ml, proporcionada por el kit comercial de Delvotest® a una pipeta plástica (una para cada muestra), también proporcionada con el kit comercial, después de realizado el acoplamiento se rompió la película protectora de la ampollita con la punta de la pipeta plástica, después se procedió a realizar la toma de la muestra de uno de los vasos de icopor, realizando succión con la jeringa hasta completar 1ml de muestra; posterior a este procedimiento se liberó la muestra dentro de la ampollita del cultivo, después se depositó la ampollita preparada en uno de los agujeros destinados a ellas en la incubadora MIC – 12. Este procedimiento se repitió para cada una de las veintidós (22) muestras. Posteriormente se inició una cuenta regresiva correspondiente a 180 minutos, con un cronómetro, tiempo indicado por el fabricante para la incubación del cultivo.

Después de terminados los 180 minutos correspondientes a la incubación se realizó la interpretación de los resultados, se tomó como positivo a antibióticos β -Lactámicos cuando el color del cultivo no cambió y permaneció púrpura y Negativa a antibióticos β -Lactámicos cuando el color del cultivo cambió de color a un tono amarillo o cercano al mismo. Finalmente se consignaron los resultados por escrito. Finalmente y posterior a la lectura se desecharon las ampollitas con la leche y el cultivo y se repitió el antes mencionado proceso para las siguientes muestras.

5.7.3 Ekomilk®. Para la evaluación de las muestras de leche en este equipo, se emplearon las muestras previamente rotuladas y utilizadas para las pruebas con Delvotest®, con las cuales se realizó la evaluación de las propiedades físico químicas, mencionadas en el marco teórico*.

* Ver numeral 4.2.2.

Para iniciar se realizó una limpieza del equipo con agua destilada, llenando el recipiente plástico especial para el Ekomilk®, en la cantidad indicada por el fabricante (20 ml), posterior al llenado del recipiente se procedió a realizar un ciclo automático de lavado del equipo, terminado el mismo se procedió a elevar la temperatura de las muestras a 15° C., mediante baño maría, controlando la temperatura mediante un termómetro. Posterior al calentamiento de la muestra se llevó a cabo una homogeneización de la leche, tras la cual se hizo una primera medición para lo cual se tomaron 20 ml de leche con una jeringa desechable y se depositaron en el recipiente plástico especial para Ekomilk®. Posterior a la lectura y rotulación de los resultados, se hizo una segunda medición, para lo cual se descartaron los primeros 20 ml empleados en la primera medición, se lavó el recipiente plástico con agua destilada, posterior a esto se tomaron nuevamente 20 ml de leche de la muestra a evaluar para ser depositados en seguida en el recipiente plástico. Finalizado el proceso de análisis de la muestra, se realizó la nueva lectura y escritura de resultados. Al final de cada día del estudio se realizó el lavado del equipo con la solución detergente Ekoweek, agregando 1ml de la solución mencionada en 10 ml de agua destilada, esto durante un ciclo de lavado del Ekomilk®, y adicional a esto un segundo y tercer lavado con agua destilada durante un ciclo cada uno. El procedimiento anteriormente descrito se repitió durante todo el estudio. Al final de la evaluación de la totalidad de las muestras se obtuvo el promedio de los resultados obtenidos para su posterior evaluación estadística.

5.7.4 Reductasa. Para la evaluación de las muestras de leche, se emplearon las muestras previamente rotuladas y utilizadas para las pruebas con Delvotest®, y Ekomilk® se rotularon 22 tubos de ensayo especificando cada expendio, se vertió 20 ml de leche y 1ml de solución azul de metileno luego se llevaron los 22 tubos a baño maría 37°C durante 9 horas verificando cada 30 minutos si las muestras presentaban cambios en la coloración.

* Ver numeral 4.2.2.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.2 DELVOTEST®

En cuanto a la presencia, en proporción de residuos de antibióticos β -lactámicos, en leche cruda correspondiente a los 22 expendios mediante la prueba Delvotest®, en la ciudad de Pasto, los resultados obtenidos fueron:

Debido a que el presente estudio se encontró un 29% de resultados positivos a la prueba Delvotest®, para antibióticos betalactámicos, entonces:

Se acepta la hipótesis alterna: $H_1: \pi \neq 0,50$ (La presencia, en proporción de residuos de antibióticos betalactámicos en leche cruda comercializada en 22 expendios en el área urbana del municipio de Pasto, mediante prueba de Delvotest®, es diferente a 50%).

Para realizar el análisis estadístico fue necesario designar a cada expendio con un número del 1 al 22

Cuadro 6. Designación numeral a cada expendio

EXPENDIOS	N°
Expendio de carne José	1
Expendio de leche Ana	2
Expendio de leche Beatriz	3
Expendio de leche Blanca	4
Expendio de leche cruda	5
Expendio de leche cruda Cecilia	6
Expendio de leche cruda Maria Villota	7
Expendio de leche ruda Socorro	8
Expendio de leche cruda y nata	9
Expendio de leche Esperanza	10
Expendio de leche la Castellana	11
Expendio de leche la Estancia	12
Expendio de leche luz	13
Expendio de leche Madrigal	14
Expendio de leche María	15

Expendio de leche Mario	16
Expendio de leche Patricia	17
Expendio de leche rica leche	18
Expendio de leche Rosa	19
Expendio de leche San Vicente	20
Expendio de leche Teresa	21
Expendio de leche cruda Ilia	22

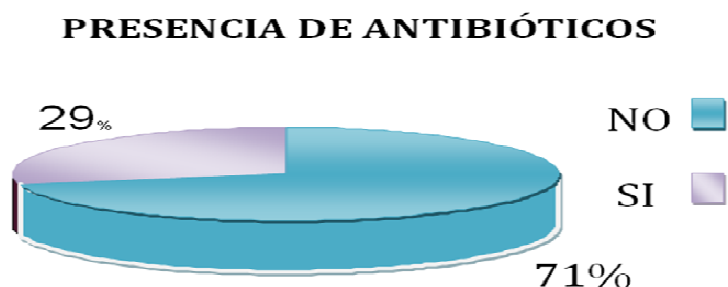
6.1.1. Presencia de antibióticos de la totalidad de las muestras (100 muestras)

Los resultados de este estudio en cuanto presencia de residuos de antibióticos en el total de las muestras fue: 29 muestras positivas lo que equivale a un 29% del total de las muestras y 71 muestras negativas que equivale a un 71% del total de las muestras.

Tabla 8. Presencia de Antibióticos en la totalidad de expendios.

NO	71	71
SI	29	29
Total	100	100

Figura 1. Presencia de antibióticos en la totalidad de expendios según Delvotest®.



6.1.2 Presencia de antibióticos de cada establecimiento

En la siguiente tabla se puede observar el número de muestras tomadas por expendio y el resultado obtenido con Delvotest® clasificado como positivo o negativo con su correspondiente porcentaje.

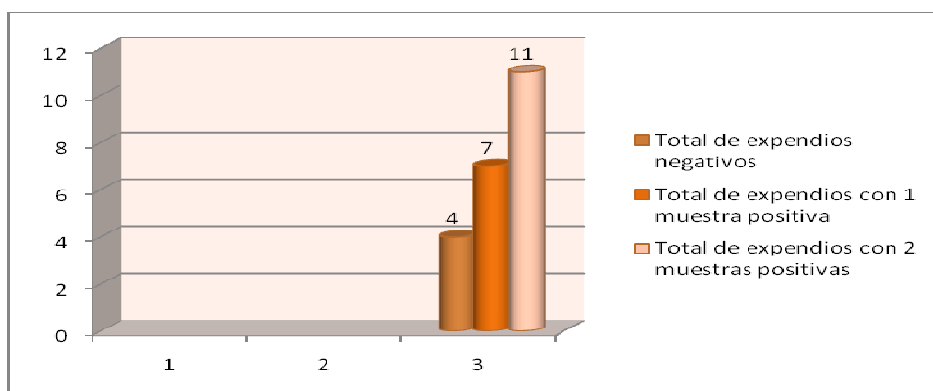
Tabla 9. Tabla de frecuencias entre cada establecimiento

EXPENDIOS		PRESENCIA DE ANTIOTIOTICOS		TOTAL MUESTRAS POR EXPENDIO
		NO	SI	
1	Muestras por expendio	4	0	4
	Porcentaje	100	0	100
2	Muestras por expendio	3	2	5
	Porcentaje	60	40	100
3	Muestras por expendio	2	2	4
	Porcentaje	50	50	100
4	Muestras por expendio	3	2	5
	Porcentaje	60	40	100
5	Muestras por expendio	4	1	5
	Porcentaje	80	20	100
6	Muestras por expendio	2	2	4
	Porcentaje	50	50	100
7	Muestras por expendio	4	1	5
	Porcentaje	80	20	100
8	Muestras por expendio	5	0	5
	Porcentaje	100	0	100
9	Muestras por expendio	2	2	4
	Porcentaje	50	50	100
10	Muestras por expendio	2	2	4
	Porcentaje	50	50	100
11	Muestras por expendio	2	2	4
	Porcentaje	50	50	100
12	Muestras por expendio	2	2	4
	Porcentaje	50	50	100
13	Muestras por expendio	2	2	4
	Porcentaje	50	50	100
14	Muestras por expendio	3	2	5
	Porcentaje	60	40	100
15	Muestras por expendio	4	1	5
	Porcentaje	80	20	100
16	Muestras por expendio	4	1	5
	Porcentaje	80	20	100
17	Muestras por expendio	4	1	5
	Porcentaje	80	20	100
18	Muestras por expendio	5	0	5
	Porcentaje	100	0	100

19	Muestras por expendio	4	1	5
	Porcentaje	80	20	100
20	Muestras por expendio	2	2	4
	Porcentaje	50	50	100
21	Muestras por expendio	4	1	5
	Porcentaje	80	20	100
22	Muestras por expendio	4	0	4
	Porcentaje	100	0	100

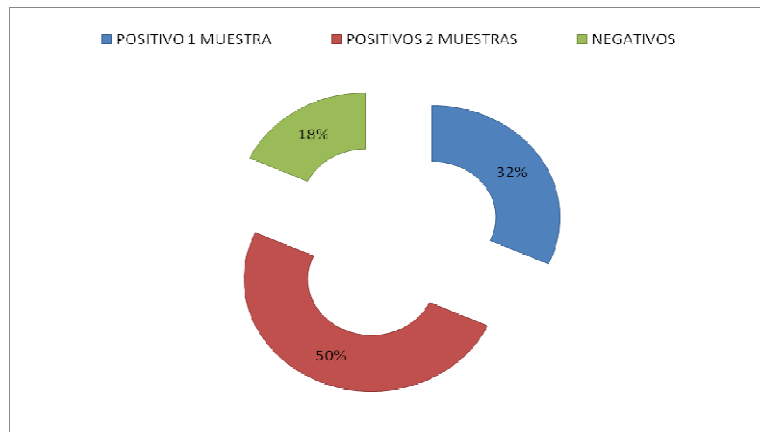
En el siguiente cuadro se detalla la proporción de los resultados positivos y negativos para la prueba Delvotes®, se agrupó por expendios negativos, expendios que presentaron una muestra positiva y expendios con dos muestras positivas.

Figura 2. Comparación de número de muestras con presencia de antibióticos



De los veintidós expendios 4 no presentaron residuos de antibióticos representando un 18%, 7 expendios presentaron residuos de antibióticos en una muestra lo que representa un 32% y 11 expendios presentaron residuos de antibióticos en dos muestras representando un 50% de la población.

Figura 3. Representación porcentual del número de muestras con presencia de antibióticos



De lo anterior se puede deducir que solo 4 expendios a quienes se les asigno nomenclatura 1, 8, 18 y 22 se encuentran dentro de lo aceptado por el decreto 616 de 2006¹¹⁶, ya que durante el periodo de estudio estos 4 expendios se encontraron libres de residuos, por lo que cumplen con el artículo 17 del capítulo V.

En cuanto a los expendios que presentaron residuos de antibióticos se puede afirmar que no se encuentran dentro de lo estipulado en el artículo 17 del capítulo V, del decreto 616 del 2006¹¹⁷, por lo tanto esta leche no es comercializable.

6.1.3 Análisis de varianza para las propiedades físico químicas. Teniendo en cuenta las medias analizadas en los análisis de varianza para las propiedades físico químicas (grasa, sólidos no grasos, densidad, proteínas y agua agregada):

- **Anova para grasa.** Empleando los resultados obtenidos de cada una de las muestras de los 22 expendios para la grasa, de la tabla ANOVA se puede afirmar debido a p-valor del test F es superior o igual a 0,05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de grasa de un expendio a otro, con un nivel de confianza del 95,0%, como se puede observar en la tabla 10.

¹¹⁶ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Op., cit. p 26.

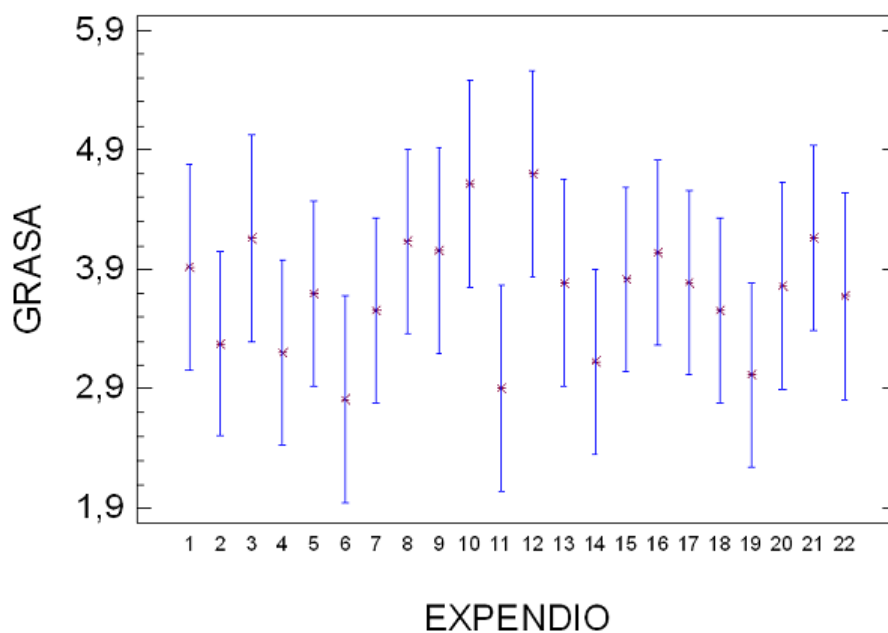
¹¹⁷ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Op., cit. p 32.

Tabla 10. ANOVA para grasa

Fuente	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P- Valor
Entre grupos	10,094695	21	0,48069976	0,62518889	0,88772871
Intra grupos	59,973205	78	0,76888724		
Total (Corr.)	70,0679	99			

En la figura 4 se puede observar la distribución de los resultados para cada uno de los expendios dentro de los valores obtenidos para la variable grasa.

Figura 4. Representación de Medias para grasa para cada expendio.



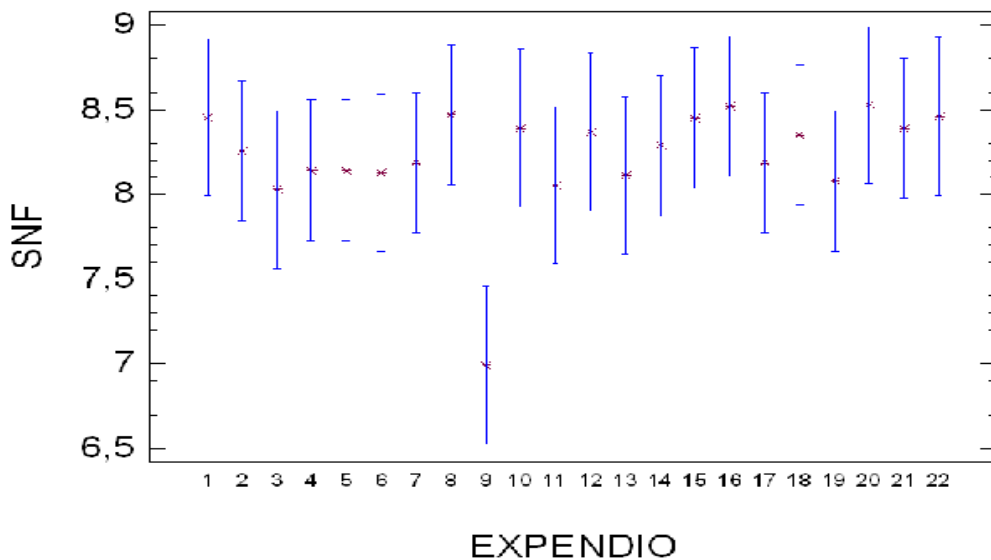
- **Anova para SNF.** Empleando los resultados obtenidos de cada una de las muestras de los 22 expendios SNF, de la tabla ANOVA se puede afirmar que puesto que el p-valor del test F es mayor o igual a 0,05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de SNF de un expendio a otro, con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 11. ANOVA para SNF

Fuente	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente - F	P- Valor
Entre grupos	2,54949	21	0,12140429	0,93979361	0,54358376
Intra grupos	10,076185	78	0,12918186		
Total (Corr.)	12,625675	99			

En la figura 5 se puede observar la distribución de los resultados para los 22 expendios dentro de los valores obtenidos para la variable SNF.

Figura 5. Representación de medias para SNF para cada expendio.



- **Anova para densidad.** Empleando los resultados obtenidos de cada expendio para la densidad, de la tabla ANOVA se puede afirmar que puesto que el p-valor del test F es mayor o igual 0,05, no hay diferencia estadísticamente

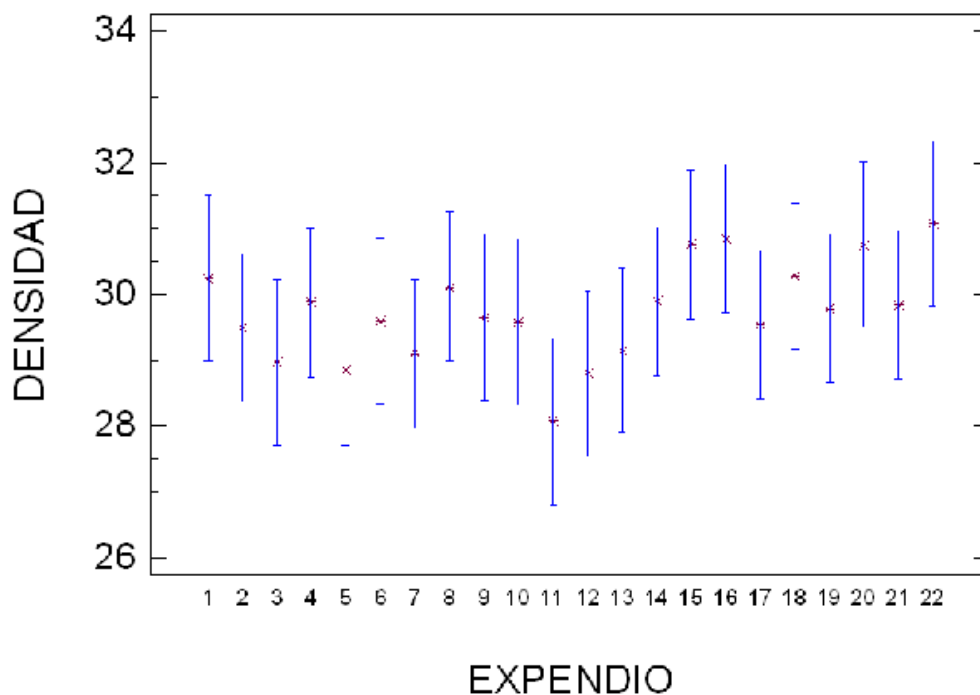
significativa entre las densidades medias de un expendio a otro, con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 12. ANOVA para densidad

Fuente	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P- Valor
Entre grupos	51,1055	21	2,43359524	0,76459719	0,75186816
Intra grupos	248,262	78	3,18284615		
Total (Corr.)	299,3675	99			

En la figura 6 se puede observar la distribución de los resultados para los 22 expendios dentro de los valores obtenidos para la variable densidad.

Figuras 6. Representación de medias para densidad para cada expendio.



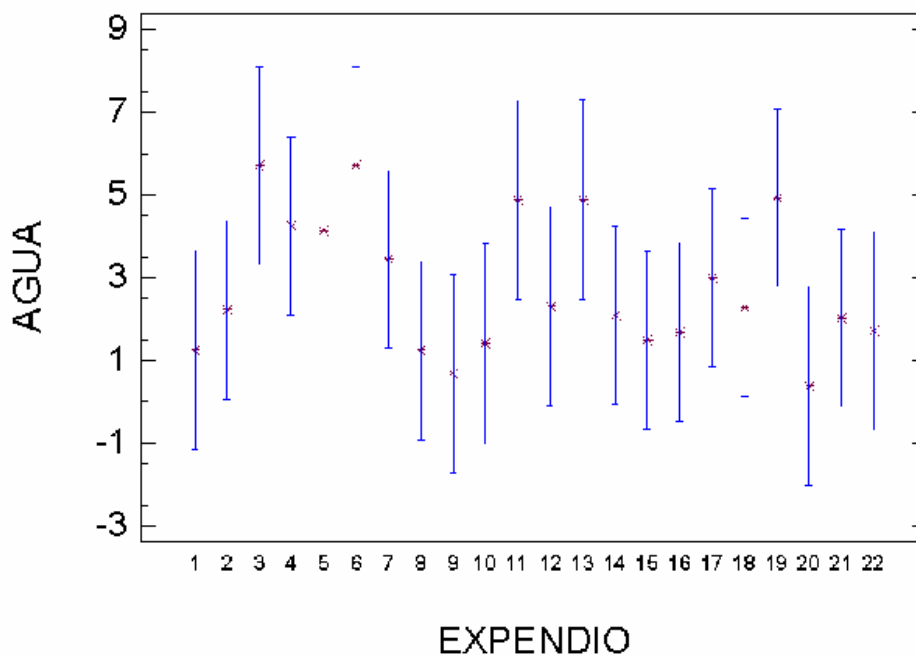
- **Anova para agua agregada.** Empleando los resultados obtenidos de las muestras de cada uno de los expendios para agua agregada, de la tabla ANOVA se puede afirmar que puesto que el p-valor del test F es mayor o igual a 0,05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de agua agregada de un expendio a otro, con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 13. ANOVA para agua agregada

Fuente	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P- Valor
Entre grupos	246,831614	21	11,7538864	1,00785399	0,46439724
Intra grupos	909,65869	78	11,6622909		
Total (Corr.)	1156,490304	99			

En la figura 7 se puede observar la distribución de los resultados para los 22 expendios dentro de los valores obtenidos para la variable agua agregada.

Figura 7. Representación de medias para agua agregada para cada expendio.



- **Anova para proteína.** Empleando los resultados obtenidos de las muestras de los 22 expendios para proteína, de la tabla ANOVA se puede afirmar que puesto que el p-valor del test F es mayor o igual a 0,05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de proteína de un expendio a otro, con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 14. ANOVA para proteína

Fuente	Sumas de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cociente F	P- Valor
Entre grupos	0,517329	21	0,02463471	0,84273143	0,66059223
Intra grupos	2,280095	78	0,02923199		
Total (Corr.)	2,797424	99			

En la figura 8 se puede observar la distribución de los resultados para los 22 expendios dentro de los valores obtenidos para la variable proteína.

Figura 8. Representación de medias para proteína para cada expendio.

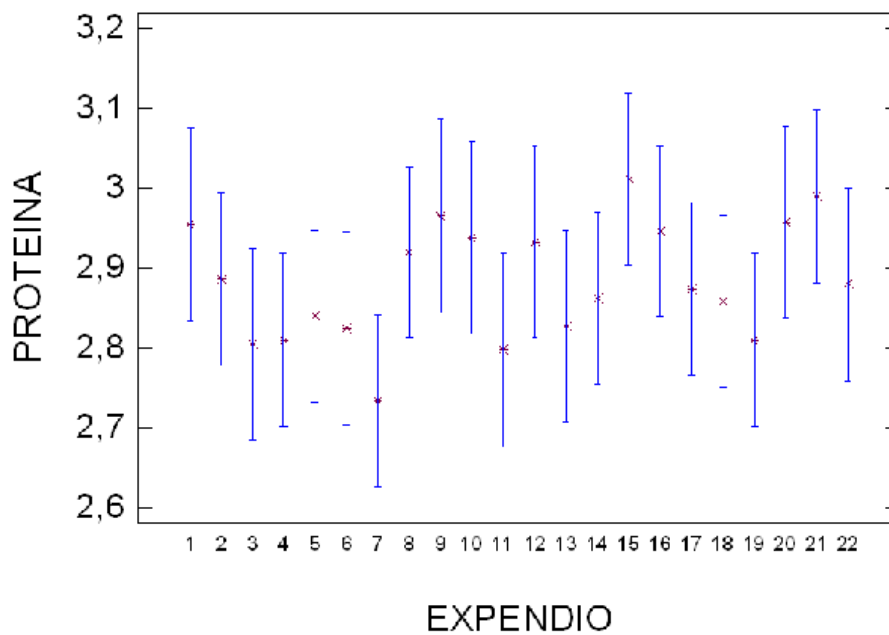


Tabla 15. Análisis descriptivo de las propiedades fisicoquímicas de los 22 expendios.

	N° de muestras	Mínimo	Máximo	Promedio	Desviación estandar
GRASA	100	1,69	8,17	3,6041	1,19613189
SÓLIDOS NO GRASOS	100	2,78	9,07	8,2332	0,6563503
DENSIDAD	100	22,8	32,4	29,755	1,73894052
AGUA	100	0	11,9	2,7936	3,41785316
PROTEINA	100	2,06	3,19	2,8824	0,16809761

De acuerdo al análisis descriptivo de las propiedades fisicoquímicas de la leche cruda comercializada en la ciudad de San Juan de Pasto se puede concluir que los 22 expendios no cumplen con lo estipulado en el decreto 616 de 2006 debido a que están por bajo de lo estipulado en dicho decreto; siendo la propiedad agua agregada el componente principal de análisis.

6.1.4 Reductasa Los resultados para la prueba de reductasa fueron: 14 muestras presentaron un cambio en la coloración de la leche a los 30 minutos de empezar la prueba lo que representa un 14% de las muestras lo que significa que el número de bacterias presentes por ml es > 600 millones, 11 muestras presentaron cambios en la coloración de la leche a los 60 minutos de iniciada la prueba lo que equivale a un 11% de las muestras lo que significa que su recuento de bacterias por ml es de 100 - 600 millones, 4 muestras presentaron cambios en la coloración a los 90 minutos de iniciada la prueba lo que equivale a una 4% de las muestras su recuento de bacterias por ml es de 25 - 100 millones; 14 muestras presentaron un cambio en la coloración a los 120 minutos representando un 14% de las muestras con un recuento de bacterias por ml de 10 - 25 millones; 10 muestras presentaron un cambio en la coloración de la leche a los 150 minutos de empezar la prueba lo que significa que el 10% de las muestras con un recuento de bacterias por ml de 10 - 25 millones.

47 muestras no presentaron ningún cambio en su coloración hasta las 6 horas representando un 47% de las muestras. Se tomó como referencia la Tabla 7 de la investigación consignada en la tesis de grado de la Universidad Javeriana "Actividad de microorganismos en leches crudas de la sabana de Bogotá y su relación con la prueba TRAM" bajo la dirección de Blanca Cecilia Gaviria, de interpretación del TRAM.

Tabla 16. Prueba de reductasa azul de metileno TRAM.

TIEMPO EN MINUTOS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
30 min.	14	14
60 min	11	11
90 min	4	4
120 min	14	14
150 min	10	10
6 horas o +	47	47
Total	100	100

De los 22 expendios objeto de estudio; designados con los números 1,2,3,6,8,9,10,11,13,14 y 15 presentaron cambios en la coloración de la leche a los 30 minutos de iniciada la prueba por lo menos un una muestra; mientras que el expendio número 12 tuvo estos mismos resultados pero en dos de sus muestras.

El expendio número 22 fue el único que reportó cambios en su coloración a partir de los 150 minutos en solo una muestra; de 4 tomadas; las tres restantes no tuvieron cambios hasta las 6 horas.

47 muestras no reportaron cambios en su coloración hasta las 6 horas pero teniendo en cuenta el trabajo de investigación "Actividad de microorganismos en leches crudas de la sabana de Bogotá y su relación con la prueba TRAM"; en nuestro medio se necesita más de 10 horas de prueba para considerar la calidad de la leche por lo tanto; ninguno de los expendios cumple con lo establecido en el decreto 2838 de 2006, capítulo II, artículo 12 sobre las características microbiológicas de la leche cruda.; debido a que solo se aceptan hasta 700.000 bacterias mesófilos aerobios ufc/ml.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- En el presente estudio, se encontró un 29% de resultados positivos a la prueba Delvotest para antibióticos β -lactámicos; por lo tanto esta leche no debe ser comercializada.
- De los 22 expendios objeto de estudio solo 4 expendios a quienes se les asignó nomenclatura 1, 8, 18 y 22 se encuentran dentro de lo aceptado por el decreto 616 de 2006, ya que durante el periodo de estudio estos 4 expendios se encontraron libres de residuos de antibióticos.
- El promedio de las características físico químicas: grasa, sólidos no grasos, densidad de la leche, proteínas y agua agregada a la leche; de los 22 expendios que comercializan leche cruda en la ciudad de Pasto, analizadas mediante Ekomilk® es igual; es decir no existe diferencias estadísticamente significativas entre cada expendio.
- Los 22 expendios no están dentro del rango de las características físico químicas por lo tanto no cumplen con lo estipulado por el Decreto 616; siendo el componente principal de análisis el agua agregada.
- En el presente estudio, se encontró que los 22 los expendios es decir el 100% de la población objeto de estudio tuvieron un cambio en la coloración de la leche en un tiempo menor de 6 horas en una de sus muestras; por lo tanto no cumplen con los requisitos sobre las características microbiológicas de la leche estipuladas por el decreto 2838 de 2006.
- De las 100 muestras de leche a las cuales se realizó la prueba reductasa el 53% de estas presentaron cambios en su coloración en un tiempo menor a 150 minutos.
- De las 100 muestras de leche objeto de estudio el 47% de estas no reportaron ningún cambio en su coloración hasta las 6 horas.

- De los 22 expendios objeto de estudio los expendios designados con los números 1,2,3,6,8,9,10,11,12,13,14 y 15 presentaron cambios en la coloración de la leche a los 30 minutos de iniciada la prueba por lo menos un una muestras; mientras que el expendio número 12 tuvo estos mismos resultados pero en dos sus muestras.
- El expendio número 22 fue el único que tuvo cambios en su coloración a partir de los 150 minutos en solo una de sus 4 muestras; las tres restantes no tuvieron cambios hasta las 6 horas.

7.2 RECOMENDACIONES.

- Realizar estudios a nivel de fincas proveedoras y a cada vehículo transportador de leche cruda para identificar posibles falencias de la calidad; con un tamaño de muestra mayor, además que el estudio en mención se lleve a cabo en un periodo de tiempo mas prolongado.
- Realizar estudios con otros métodos de detección de antibióticos, como el Snap Test, la cromatografía o la espectrofotometría, para determinar que antibióticos específicamente se podrían encontrar en las muestras y en que concentraciones.
- Realizar estudios para determinar la presencia de antibióticos diferentes a los β -lactámicos para la ciudad de Pasto.
- Realizar estudios a nivel de las fincas las cuales abastecen los expendios para realizar un control sobre el uso de las drogas veterinarias.
- Realizar un estudio para determinar la presencia de otros contaminantes de la leche como lo son los conservantes, pesticidas, hormonas y desparasitantes en la leche que será comercializada en la ciudad.
- Realizar estudios para las propiedades físico químicas que se complementen con las pruebas tradicionales de laboratorio, para comprobar y completar estudios a llevar a cabo con equipos como el Ekomilk.

- Se recomienda realizar estudios donde se aplique la prueba Unidades Formadoras de Colonias debido a que es la prueba que realmente mide la calidad higiénica de la leche. La prueba del TRAM, es una pequeña aproximación que cada día tiene menos importancia por la poca capacidad de diagnóstico que tiene.
- Se recomienda a las autoridades correspondientes mejorar las actividades de IVC (Inspección, Vigilancia y Control) y a la par realizar estrategias de IEC (Información, Educación y Comunicación) a la comunidad.
- las autoridades competentes deben tener una mayor vigilancia sobre cada finca y cada vehículo transportador que provee a cada expendio de leche cruda.

BIBLIOGRAFÍA

COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto numero 616 de 2006. p. 4. [en línea]. Pagina Web versión Html, [fecha de consulta: 16 de Agosto 2007]. Disponible en Internet: <http://www.plancalidadleche.org.co/Decreto%20616%2028-02-2006%20MinProteccion.pdf>

COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto numero 2838 de 2006. p. 1-3. [en línea]. Pagina Web versión Html, [fecha de consulta: 16 de Agosto 2007]. Disponible en Internet: <http://www.plancalidadleche.org.co/Decreto%20616%2028-02-2006%20MinProteccion.pdf>

ALTHAUS, R. L. TORRES, A. MONTERO, A. BALASCH, S. MOLINA, M. P. Detection limits of antimicrobials in ewe milk by Delvotest photometric measurements. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: 25 de marzo 2008]. Disponible en Internet: <http://jds.fass.org/cgi/content/abstract/86/2/457>

BOTANA LÓPEZ, Luís M., Farmacología y terapéutica veterinaria. Madrid, España. 2002. p. 493.

BGB-BIOGEN GMBH. Cefalosporinas. [En línea]. Página web versión Html. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.dic.org.ar/enfpleu/epp099.php#7.4.3>.

CANADA. BRITISH COLUMBIA MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD DAIRY TALK, Added water: the hidden costs. [en línea]. Página Web versión Pdf. [fecha de consulta: agosto 24 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.al.gov.bc.ca/dairy/publications/documents/added_water.pdf

CALDERÓN JAIMES, Ernesto. Cefalosporinas de segunda generación. p. 3. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/cefalosporinas.pdf

AGROCADENAS DE COLOMBIA, MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL, IICA, Estadísticas agroindustria láctea de Colombia. [en línea]. Pagina web versión Xls, [fecha de consulta: 22 Marzo 2008]. Disponible en Internet: www.agrocadenas.gov.co

CASANOVA CARDIEL, Luís. Carboxipenicilinas, ureidopenicilinas y sulfopenicilinas. p. 1. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/carboxipenicilinas.pdf

CÓDIGO DE PRÁCTICAS DE HIGIENE PARA LA LECHE Y LOS PRODUCTOS LÁCTEOS CAC/RCP 57–2004. 4, 5p. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta 28 marzo de 2008]. Disponible en internet: www.codexalimentarius.net/download/standards/10087/CXC_0572004s.pdf

DSM. Delvotest – Used everywhere. . [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 15 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/en_US/delvotest/html/delvotest_1.htm

CORIA LORENZO, José de Jesús. Cefalosporinas. p. 1. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibióticos/cefalosporinas.pdf

CUÉ BRUGUERAS, Manuel y MOREJÓN GARCÍA Moisés. Antibacterianos de acción sistémica. Parte I. antibióticos β -lactámicos. p. 3. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 1, 2007]. Disponible en Internet: <http://scielo.sld.cu/pdf/mgi/v14n4/mgi08498.pdf>

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y TERAPÉUTICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. Penicilinas. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Abril 28 de 2008]. Disponible en Internet: http://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/F_General/F_G_T62.pdf

DR. MSC. NÚÑEZ FREILE, Byron. Uso racional de los antibióticos. p. 4. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: <http://virtual.unipar.br/courses/CL/document/penicilinas3.pdf?cidReq=CL>

FABRE J.M. 2.4. Risks related to the presence of antibiotic residues in food. 2006. p. 3. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 2007]. Disponible en Internet: http://www.dsm.com/le/static/delvotest/downloads/LesRisquesDeResidus_extrait3_En.pdf

FABRE J.M. 3.2 Maximum residue limit. 2006. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 2007]. Disponible en Internet:

http://www.dsm.com/le/static/delvotest/downloads/LesRisquesDeResidus_extrait2_En.pdf

MAGARIÑOS, Haroldo. Producción higiénica de la leche cruda para la pequeña y mediana empresa. [en línea]. Pagina versión Pdf. [fecha de consulta Mayo 15]. Disponible en Internet: http://www.science.oas.org/OEA_GTZ/LIBROS/LA_LECHE/leche_all.pdf

FAO/OMS. El Codex alimentarius de la FAO/OMS y el control de residuos de plaguicidas, citado por PARRA Op. cit., p. 11.

GÓMEZ GARCÍA, A. C., PÉREZ Giraldo, C., BLANCO ROCA, M. T., MORÁN DOMÍNGUEZ F. J., HURTADO MANZANO, C. Penicilinas. 1998. p. 4. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Mayo 2 de 2008]. Disponible en Internet: <http://www.sepeap.es/libros/MEDICINE98/Artikulu/m8003.pdf>

ING. MAST. CIENCE ZAVALA POPE, José Mauricio. Aspectos nutricionales y tecnológicos de la leche. 2005. p. 28. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: Mayo 5 de 2008]. Disponible en Internet: http://www.minag.gob.pe/dgpa1/ARCHIVOS/agroin_doc2.pdf

_____ Determinación de grasa y sólidos totales en leche y derivados. Guia practica. p. 3. [en línea]. Pagina Web versión Pdf. [fecha de consulta: Mayo 10 de 2008]. Disponible en Internet: http://members.tripod.com.ve/tecnologia/solidosygrasa_archivos/STyGRASA.pdf

_____ Introducción al control de calidad de la leche cruda, Guía práctica. 2003. p. 11. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 10 de 2007]. Disponible en Internet: http://members.tripod.com.ve/tecnologia/Introduccion_archivos/Introduccion.pdf

MÉXICO. UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA. Control físico-químico de la leche. Julio del 2004. p. 9. [en línea]. Pagina web versión ppt. [fecha de consulta: Junio 1 de 2008]. Disponible en Internet: <http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/Control%20fisico%20quimico%20%20de%20la%20leche.ppt>

LACTOSAN, Milk falsification. [en línea]. Página Web versión Html. [fecha de consulta: Mayo 24 de 2008]. Disponible en Internet: <http://www.lactoscan.com/articles/milkfals.html>

MALABRAN G., Carlos. Métodos estandarizados para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de animales. 2001. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 16 de 2007]. Disponible en

Internet:

http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/gss/publications/documents/ArgentinaLevell/CIM_ATB_ANIMAS

MARÍN, Mar, GUDIOL, Francesc. Antibióticos β -lactámicos. p. 1. [En línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: septiembre 1 de 2007]. Disponible en Internet:

http://external.doyma.es/espacioformacion/eimc/eimc_docs/28v21n01a13042137p_df001.pdf

MCDERMOTT P. F., ZHAO S, WAGNER D. D, SIMJEE S., WALKER R. D., WHITE D. G. The food safety perspective of antibiotic resistance. 2002. p. 71-84. [en línea]. Archivo web versión Html. [fecha de consulta: Mayo 20 de 2008]. Disponible en Internet:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?itool=abstractplus&db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=abstractplus&list_uids=12212946

POPELKA, Peter, NAGY, Jozef, POPELKA, Pavel, MARCINCAK, Slavomir, ROZANKA, Hanna, SOKOL, Jozef. Comparison of sensitivity of various screening assays and liquid chromatography technique for penicillin residue detection in milk. 2004. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: mayo 2 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.piwet.pulawy.pl/doc/biuletyn_48-3/18_popelka.pdf

MITCHELL Mark, NORRIS Brenda. Testing goat milk for antibiotic residues. Ontario Ministry of agriculture, food and rural affairs. 2005. [En línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: Junio 8 2008]. Disponible en Internet: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/goat/news/dgg0510a4.htm>

MONOGRAFIAS.COM. Lácteos. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: agosto 18 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.monografias.com/trabajos6/lacte/lacte.shtml>

OCAMPO C., Luís. Residuos de fármacos en productos de origen animal. p. 7. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: febrero 7 de 2007]. Disponible en Internet: <http://www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/BtRgClig011.pdf>

ORTIZ IBARRA, Javier. Cefalosporinas de cuarta generación. p. 5. [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en Internet: http://www.conapeme.org.mx/manual_antibioticos/cefalosporinas.pdf

PARRA T. Maria Helena. Los residuos de medicamentos en la leche, problemática y estrategias para su control. Neiva (Colombia): CORPOICA-PRONATA. 2003. p. 39.

_____ Comparison of various methods for penicillin residue detection in cow milk after intramammary and parenteral treatment. 2002. p. 1. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: mayo 2 de 2007]. Disponible en Internet: http://esterka.piwet.pulawy.pl/doc/biuletyn_47-1/26-357_Popelka.pdf

RESTREPO SALAZAR, Juan Gonzalo. Terapéutica veterinaria. Medellín, Colombia. 2006. p. 42.

RUSHING J.E., WESEN D.P. Preventing antibiotic residues in milk. Departments of Food Science and Animal Science, North Carolina State University. [en línea]. Pagina web versión Html. [fecha de consulta: febrero 7 de 2007]. Disponible en Internet: http://www2.ncsu.edu/ncsu/cals/food_science/faculty/rushing/jrushing.html

SAN MARTÍN N., Betty. Residuos de antibióticos y sulfas en leche. TECNO VET; Año N° 3, diciembre de 1995. [en línea]. Pagina ver sión Html. [fecha de consulta: Junio 12 2008]. Disponible en Internet: www.tecnovet.uchile.cl

LABORATORIOS TETUR. Ekomilk milkana, analizador integral de leche. 2005. p. 1-2. en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: Junio 4 de 2008]. Disponible en Internet: http://www.tuteur.com.ar/files/productos/3_1_EKOMILK_Mal_de_leche.pdf

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. DIPLOMATURA EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA. Prácticas, productos lácteos. 2003. p. 14. [en línea]. Pagina web versión Pdf. [fecha de consulta: Junio 11 de 2008]. Disponible en Internet: [http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/mrgarcia/Lacteos-2005/Practicas%2005-06 .pdf](http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/mrgarcia/Lacteos-2005/Practicas%2005-06.pdf)

PINZON FERNANDEZ Alfredo. Determinación del índice de bacterias mesofilas aerobias presentes en la leche cruda versus leche pasteurizada que se comercializan en la zona urbana de la ciudad de Popayán .Popayan, 2006.141p. trabajo de grado (Zootecnista).Universidad Nacional. Facultad de ciencias Agrarias.

Rico E, Guillermo. Higiene de la leche. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá p 13-67.

ALAIS, Charles. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. CIA editorial continental, S.A de C.V., México. P 17- 235

ANEXOS

Anexo A. Prueba de presencia de antibióticos para leche cruda.

ESTABLECIMIENTO			PRESENCIA DE ANTIOTIOTICOS		Total
			NO	SI	
	Exp de carne Jose	Count	4	0	4
		% within ESTABLECIMIENTO	100	0	100
	Exp de leche Ana	Count	3	2	5
		% within ESTABLECIMIENTO	60	40	100
	Exp de leche Beatriz	Count	2	2	4
		% within ESTABLECIMIENTO	50	50	100
	Exp de leche Blanca	Count	3	2	5
		% within ESTABLECIMIENTO	60	40	100
	Exp de leche cruda	Count	4	1	5
		% within ESTABLECIMIENTO	80	20	100
	Exp de leche cruda Cecilia	Count	2	2	4
		% within ESTABLECIMIENTO	50	50	100
	Exp de leche cruda Maria Villota	Count	4	1	5
		% within ESTABLECIMIENTO	80	20	100
	Exp de leche cruda Socorro	Count	5	0	5
		% within ESTABLECIMIENTO	100	0	100
	Exp de leche cruda y nata	Count	2	2	4
		% within ESTABLECIMIENTO	50	50	100
	Exp de leche Esperanza	Count	2	2	4
		% within ESTABLECIMIENTO	50	50	100
	Exp de leche la Castellana	Count	2	2	4
		% within ESTABLECIMIENTO	50	50	100
	Exp de leche La Estancia	Count	2	2	4
		% within ESTABLECIMIENTO	50	50	100
	Exp de leche Luz	Count	2	2	4
		% within ESTABLECIMIENTO	50	50	100
	Exp de leche Madrigal	Count	3	2	5
		% within ESTABLECIMIENTO	60	40	100
	Exp de leche Maria	Count	4	1	5
		% within ESTABLECIMIENTO	80	20	100

	Exp de leche Mario	Count	4	1	5
		% within ESTABLECIMIENTO	80	20	100
	Exp de leche Patricia	Count	4	1	5
		% within ESTABLECIMIENTO	80	20	100
	Exp de leche rica leche	Count	5	0	5
		% within ESTABLECIMIENTO	100	0	100
	Exp de leche Rosa	Count	4	1	5
		% within ESTABLECIMIENTO	80	20	100
	Exp de leche San vicente	Count	2	2	4
		% within ESTABLECIMIENTO	50	50	100
	Exp de leche Teresa	Count	4	1	5
		% within ESTABLECIMIENTO	80	20	100
	Exp leche cruda ilia	Count	4	0	4
		% within ESTABLECIMIENTO	100	0	100
Total		Count	71	29	100
		% within ESTABLECIMIENTO	71	29	100

Anexo B. Pruebas para propiedades físico químicas para leche cruda.

		N° de pruebas	Promedio	Desviación estandar	Error	95% Porcentaje intervalo confiabilidad		mínimo	máximo
						Lower Bound	Upper Bound		
GRASA	1	4	3,7525	0,61195724	0,30597862	2,77873947	4,72626053	3,03	4,28
	2	5	3,068	0,60263588	0,26950696	2,31972873	3,81627127	2,42	3,73
	3	4	2,935	0,8062051	0,40310255	1,65214778	4,21785222	2,12	3,76
	4	5	3,2	0,38164119	0,17067513	2,72612987	3,67387013	2,72	3,48
	5	5	3,696	1,42535259	0,63743706	1,92619101	5,46580899	2,04	5,38
	6	4	2,81	1,06122571	0,53061285	1,12135309	4,49864691	1,69	4,24
	7	5	3,554	1,16547415	0,52121589	2,1068727	5,0011273	1,89	4,91
	8	4	3,32	1,4938987	0,74694935	0,9428738	5,6971262	2,02	5,26

	9	4	3,7425	0,49243443	0,24621721	2,95892694	4,52607306	3,43	4,47
	10	4	3,415	0,42035699	0,2101785	2,74611822	4,08388178	3,07	4,02
	11	4	2,9025	0,85632451	0,42816226	1,53989661	4,26510339	2,12	4,11
	12	4	3,6425	0,21093048	0,10546524	3,30686254	3,97813746	3,43	3,89
	13	4	3,5425	0,94387058	0,47193529	2,04059128	5,04440872	2,36	4,65
	14	5	3,124	0,85827152	0,38383069	2,05831515	4,18968485	2,01	3,94
	15	5	3,62	1,1601724	0,51884487	2,1794557	5,0605443	1,95	5,16
	16	5	3,754	0,62034668	0,27742747	2,98373786	4,52426214	2,67	4,23
	17	5	3,786	1,1073527	0,49522318	2,41104002	5,16095998	2,98	5,69
	18	5	3,554	1,0579603	0,47313423	2,24036878	4,86763122	2,55	5,23
	19	5	3,018	0,52656434	0,23548673	2,36418402	3,67181598	2,19	3,52
	20	4	3,7625	0,77392398	0,38696199	2,53101424	4,99398576	3,09	4,72
	21	6	3,78	0,61309053	0,25029316	3,13660095	4,42339905	2,73	4,32
	22	4	3,6125	0,55679889	0,27839944	2,72650872	4,49849128	3	4,35
	Total	100	3,443	0,84128269	0,08412827	3,27607126	3,60992874	1,69	5,69
SOLIDOS NO GRASOS	1	4	8,455	0,32756679	0,16378339	7,93376814	8,97623186	8,21	8,93
	2	5	8,256	0,2492589	0,11147197	7,9465042	8,5654958	7,92	8,46
	3	4	8,03	0,49396356	0,24698178	7,24399374	8,81600626	7,57	8,71
	4	5	8,142	0,41002439	0,18336848	7,63288748	8,65111252	7,49	8,61
	5	5	8,142	0,46665833	0,20869595	7,56256715	8,72143285	7,44	8,53
	6	4	8,1275	0,37411006	0,18705503	7,53220742	8,72279258	7,62	8,46
	7	5	8,186	0,4411689	0,19729673	7,63821646	8,73378354	7,52	8,56
	8	4	8,55	0,23846733	0,11923366	8,17054527	8,92945473	8,37	8,9
	9	4	8,4025	0,12685293	0,06342647	8,20064868	8,60435132	8,24	8,55
	10	4	8,39	0,05354126	0,02677063	8,30480391	8,47519609	8,33	8,44
	11	4	8,05	0,38148831	0,19074416	7,44296696	8,65703304	7,52	8,37
	12	4	8,365	0,25748786	0,12874393	7,95527935	8,77472065	8,09	8,71

	13	4	8,11	0,48083261	0,24041631	7,34488802	8,87511198	7,61	8,75
	14	5	8,288	0,25113741	0,11231207	7,97617172	8,59982828	7,98	8,5
	15	5	8,45	0,39642149	0,17728508	7,9577777	8,9422223	8,07	9,06
	16	5	8,518	0,32073353	0,1434364	8,11975672	8,91624328	8,09	8,98
	17	5	8,186	0,41842562	0,18712563	7,66645597	8,70554403	7,56	8,64
	18	5	8,348	0,41275901	0,18459144	7,835492	8,860508	7,69	8,75
	19	5	8,08	0,43382024	0,19401031	7,54134103	8,61865897	7,55	8,71
	20	4	8,5275	0,02753785	0,01376893	8,48368113	8,57131887	8,5	8,56
	21	6	8,35	0,3044339	0,12428462	8,03051621	8,66948379	8,04	8,86
	22	4	8,46	0,44068129	0,22034065	7,75877773	9,16122227	8,02	9,07
	Total	100	8,2895	0,35711633	0,03571163	8,21864037	8,36035963	7,44	9,07
DENSIDAD	1	4	30,25	1,01159939	0,5057997	28,6403196	31,8596804	29,1	31,5
	2	5	29,5	2,35902522	1,05498815	26,5708833	32,4291167	25,5	31,6
	3	4	28,975	2,85934142	1,42967071	24,4251497	33,5248503	25,1	31,8
	4	5	29,88	1,26570139	0,56603887	28,3084242	31,4515758	28,1	31,5
	5	5	28,84	1,48087812	0,66226883	27,001247	30,678753	27,2	30,5
	6	4	29,6	2,4792472	1,2396236	25,6549645	33,5450355	26,3	31,7
	7	5	29,1	1,6507574	0,73824115	27,050314	31,149686	27,1	30,4
	8	5	30,12	1,25578661	0,56160484	28,560735	31,679265	28,6	31,8
	9	4	29,65	1,63401346	0,81700673	27,0499199	32,2500801	27,7	31,6
	10	4	29,575	2,32002155	1,16001078	25,883328	33,266672	26,2	31,1
	11	4	28,075	3,69447786	1,84723893	22,1962613	33,9537387	22,8	31
	12	4	28,8	2,30506688	1,15253344	25,1321242	32,4678758	26,5	31,9
	13	4	29,15	1,68621865	0,84310932	26,4668498	31,8331502	26,8	30,6
	14	5	29,9	2,1201415	0,94815611	27,2674966	32,5325034	26,8	32,4
	15	5	30,76	1,14586212	0,51244512	29,3372243	32,1827757	29,8	32,1
	16	5	30,84	0,84142736	0,37629775	29,7952299	31,8847701	30,1	32,1
	17	5	29,54	1,6682326	0,7460563	27,4686156	31,6113844	27,4	31,3

	18	5	30,28	1,17345643	0,52478567	28,8229614	31,7370386	28,6	31,5
	19	5	29,78	1,68730554	0,75458598	27,6849335	31,8750665	27,9	32
	20	4	30,75	0,69522179	0,34761089	29,643747	31,856253	30,1	31,4
	21	5	29,84	0,32863353	0,14696938	29,4319476	30,2480524	29,4	30,3
	22	4	31,075	0,82209083	0,41104542	29,76687	32,38313	30,6	32,3
	Total	100	29,755	1,73894052	0,17389405	29,4099565	30,1000435	22,8	32,4
AGUA	1	4	1,255	1,49107344	0,74553672	-1,11763058	3,62763058	0	2,94
	2	5	2,206	2,75258606	1,23099391	-1,21178701	5,62378701	0,16	6,34
	3	4	5,7025	4,42478154	2,21239077	-1,33831483	12,7433148	0	10,3
	4	5	4,25	4,35589256	1,94801437	-1,15855497	9,65855497	0	11,4
	5	5	4,136	5,11731668	2,28853359	-2,21798789	10,4899879	0	11,9
	6	4	5,705	4,84967697	2,42483848	-2,01191827	13,4219183	1,06	10,4
	7	5	3,45	4,97089529	2,22305196	-2,72218172	9,62218172	0	11
	8	5	1,24	1,96011479	0,87658998	-1,19380397	3,67380397	0	4,71
	9	4	0,69	0,92631888	0,46315944	-0,78398005	2,16398005	0	2,04
	10	4	1,3975	1,82956051	0,91478026	-1,51373905	4,30873905	0,12	4,03
	11	4	4,8725	4,65381116	2,32690558	-2,53275207	12,2777521	1,18	11,4
	12	4	2,3025	2,07390734	1,03695367	-0,99754938	5,60254938	0	4,24
	13	4	4,88	4,16244319	2,0812216	-1,74337598	11,503376	0	9,85
	14	5	2,068	2,77990467	1,24321116	-1,38370755	5,51970755	0	5,61
	15	5	1,486	1,91960413	0,85847306	-0,89750333	3,86950333	0	3,65
	16	5	1,69	2,02800394	0,90695094	-0,82809949	4,20809949	0	4,24
	17	5	2,996	4,29799139	1,92212018	-2,34066118	8,33266118	0	10,3
	18	5	2,268	3,95353892	1,76807636	-2,64096694	7,17696694	0	9,13
	19	5	4,938	4,10538914	1,83598584	-0,1595139	10,0355139	0	10,6
	20	4	0,3725	0,745	0,3725	-0,81296125	1,55796125	0	1,49
	21	5	2,036	2,4054168	1,0757351	-0,95071945	5,02271945	0	4,83
	22	4	1,7075	2,26018251	1,13009126	-1,88895475	5,30395475	0	5,01

	Total	100	2,7936	3,41785316	0,34178532	2,11542378	3,47177622	0	11,9
PROTEINA	1	4	2,955	0,12793227	0,06396614	2,7514312	3,1585688	2,86	3,14
	2	5	2,886	0,08734987	0,03906405	2,77754081	2,99445919	2,75	2,96
	3	4	2,805	0,17691806	0,08845903	2,52348389	3,08651611	2,63	3,05
	4	5	2,81	0,15937377	0,07127412	2,61211132	3,00788868	2,59	3,01
	5	5	2,84	0,18384776	0,08221922	2,61172285	3,06827715	2,57	2,99
	6	4	2,825	0,14387495	0,07193747	2,59606286	3,05393714	2,63	2,96
	7	5	2,734	0,38772413	0,1733955	2,25257691	3,21542309	2,06	2,99
	8	5	2,92	0,1890767	0,08455767	2,68523026	3,15476974	2,62	3,14
	9	4	2,965	0,08062258	0,04031129	2,83671149	3,09328851	2,87	3,05
	10	4	2,9375	0,01258306	0,00629153	2,91747755	2,95752245	2,92	2,95
	11	4	2,7975	0,14997222	0,07498611	2,55886073	3,03613927	2,59	2,93
	12	4	2,9325	0,09429563	0,04714782	2,7824546	3,0825454	2,82	3,05
	13	4	2,8275	0,17461863	0,08730932	2,54964279	3,10535721	2,64	3,06
	14	5	2,862	0,16783921	0,07505998	2,6536001	3,0703999	2,61	3
	15	5	3,012	0,13773162	0,06159545	2,8409836	3,1830164	2,84	3,18
	16	5	2,946	0,14741099	0,0659242	2,76296508	3,12903492	2,81	3,16
	17	5	2,874	0,15485477	0,06925316	2,68172241	3,06627759	2,62	3,01
	18	5	2,858	0,18335757	0,082	2,6303315	3,0856685	2,66	3,05
	19	5	2,81	0,16232683	0,07259477	2,60844462	3,01155538	2,61	3,04
	20	4	2,9575	0,03685557	0,01842779	2,89885456	3,01614544	2,91	3
	21	5	2,99	0,14159802	0,06332456	2,81418283	3,16581717	2,79	3,13
	22	4	2,88	0,2325224	0,1162612	2,51000497	3,24999503	2,64	3,19
	Total	100	2,8824	0,16809761	0,01680976	2,84904579	2,91575421	2,06	3,19

Anexo C. Pruebas para tiempo de reductasa para leche cruda.

TIEMPO (min)					
ESTABLECIMIENTO	N° de muestras	Mínimo	Máximo	Promedio	Desviación estandar
1	3	30	150	90	60
2	3	60	150	90	51,9615242
3	3	30	150	80	62,44998
4	2	30	90	60	42,4264069
5	1	150	150	150	.
6	2	30	120	75	63,6396103
7	2	120	150	135	21,2132034
8	3	90	120	110	17,3205081
9	2	30	120	75	63,6396103
10	2	30	60	45	21,2132034
11	2	60	120	90	42,4264069
12	3	30	120	70	45,8257569
13	4	30	120	75	51,9615242
14	3	30	120	70	45,8257569
15	1	120	120	120	.
16	3	60	150	110	45,8257569
17	3	30	150	100	62,44998
18	2	30	150	90	84,8528137
19	3	60	90	70	17,3205081
20	2	30	150	90	84,8528137
21	2	60	150	105	63,6396103
22	2	30	120	75	63,6396103
Total	53	30	150	87,1698113	45,6734799