

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



TESIS

**RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE CRUDA DE VACA
EXPENDIDA EN LOS MERCADOS DE LA PROVINCIA DE CANCHIS,
CUSCO**

PRESENTADO POR:

Br. MARIBEL CONDORI NOA

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL
DE MÉDICO VETERINARIO**

ASESORES:

MSc. SANTOS WILTON CALDERÓN RUIZ.

PhD. RUBÉN PINARES HUAMANÍ

MSc. RAÚL RAMIRO FLORES MARA

CUSCO – PERÚ

2026



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el **Asesor** SANTOS WILTON CAIDRON RUIZ
..... quien aplica el software de detección de similitud al
trabajo de investigación/tesis titulada:
..... RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE CRUDA DE VACA
..... EXPENDIDA EN LOS MERCADOS DE LA PROVINCIA
..... DE CANCHIS, CUSCO.

Presentado por: MARIBEL CONDORI NOA DNI N° 73301256 ;
presentado por: DNI N°:
Para optar el título Profesional/Grado Académico de MEDICO VETERINARIO

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el
Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de
Similitud en la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 04 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	<u>X</u>
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto**
las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 16 de SEPTIEMBRE de 2026


Firma

Post firma SANTOS WILTON CAIDRON RUIZ

Nro. de DNI 26960866

ORCID del Asesor 0000-0001-8091-5814

ORCID 2do ASESOR: 0000-0002-9033-7736


RUBÉN PINARES HUAMANI
DNI: 46437925

Se adjunta:

- Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
- Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: **oid:** 27259 : 625175808

CONDORI NOA MARIBEL

RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE CRUDA DE VACA EXPENDIDA EN LOS MERCADOS DE LA PROVINCIA DE CANC...

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::27259:625175808

Fecha de entrega

16 sep 2026, 6:27 a.m. GMT-5

Fecha de descarga

16 sep 2026, 6:39 a.m. GMT-5

Nombre del archivo

TESIS Maribel Condori final DICTAMENN.docx

Tamaño del archivo

10.3 MB

80 páginas

14.235 palabras

80.784 caracteres



M.Sc. WILTON CLDERÓN RUIZ
ASESOR

4% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 15 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 4%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a Dios, por darme fortaleza, sabiduría y paz en cada paso de este camino. Quien sembró este anhelo en mi corazón y puso en mi vida a las personas indicadas para orientarme con sabiduría y amor.

A mis amados padres, en especial a mi madre Lucía Noa, por su amor incondicional, su sacrificio constante y su inquebrantable fe en mí. Su apoyo moral y esfuerzo han sido el pilar fundamental que me permitió perseverar y alcanzar este logro. Todo lo que soy y lo que he conseguido, se los debo a ustedes.

A mis hermanos Aydee, Gladis, Cleymer, Yuli y Rober quienes siempre han sido mi fuente de inspiración y apoyo infinito les dedico este logro con todo mi corazón.

A mis familiares, por su constante ánimo, comprensión y valiosos consejos. Su presencia y cariño llenaron de luz mi camino durante este largo proceso académico, recordando siempre que cuento con un refugio seguro y una red de apoyo invaluable.

Maribel Condori Noa.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco y a la Facultad de Medicina Veterinaria, por haberme acogido en sus aulas y brindarme las herramientas, recursos y un entorno académico de excelencia, fundamentales para mi desarrollo profesional.

Un reconocimiento especial a mis asesores, PhD. MVZ. Rubén Pinares Huamaní, MSc. MV. Wilton Calderón Ruiz y MSc. MVZ. Raúl Ramiro Flores Mara. Más allá de la corrección de estilo o la revisión de datos, agradezco su capacidad para desafiar mi pensamiento, empujarme a cuestionar mis propias premisas y refinar la claridad de mi argumento.

A los docentes de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria, por impartir sus conocimientos, experiencias y dedicación a formar profesionales competentes y con ética, en especial al MSc. Julio Ramírez por su consejo y motivación.

Este logro es un testimonio de su apoyo colectivo. A todos ustedes, mis más sinceros agradecimientos.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
2.1. Formulación del problema de investigación.....	4
2.1.1. Problema general	4
2.1.2. Problemas específicos.....	4
III. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN.....	5
3.1. Objetivo general	5
3.1.1. Objetivos específicos	5
3.2. Justificación	5
IV. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS	6
V. MARCO TEÓRICO.....	7
4.1. Antecedentes de la investigación.....	7
4.1.1. Antecedentes internacionales	7
4.1.2. Antecedentes nacionales.....	9
4.1.3. Antecedente regional	10
4.2. Marco conceptual	10
4.2.1. Leche	10
4.2.2. Características y propiedades de la leche	11
4.2.3. Importancia de la leche en la alimentación humana.....	11
4.2.4. Producción y comercialización de la leche a nivel nacional	12

4.2.5. Residuos de antibióticos	12
4.3. Antibiótico	13
4.3.1. Clasificación de los antibióticos	13
4.3.2. Farmacocinética	13
4.3.3. Farmacodinamia	14
4.3.4. Periodo de retiro y límites máximos de residuos	14
4.4. Métodos de identificación de residuos de antibióticos en leche	15
4.4.1. Métodos microbiológicos	15
4.4.2. Métodos químicos	16
4.4.3. Kits o pruebas rápidas	17
4.5. Fundamentos de equipo de HPLC	17
4.6. Impacto en la salud pública	19
VI. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	20
6.1. Ubicación geográfica	20
6.2. Enfoque de investigación	20
6.3. Tipo de investigación	20
6.4. Población y muestra	20
6.4.1. Población	20
6.4.2. Muestra	21
6.5. Método de muestreo	22
6.6. Materiales y equipos	22
6.6.1. Materiales biológicos	22

6.6.2.	Materiales y equipos de laboratorio.....	22
6.6.3.	Materiales de escritorio	24
6.7.	Metodología.....	25
6.7.1.	Preparación de estándares.....	25
6.7.2.	Preparación de fase móvil.....	25
6.7.3.	Preparación de soluciones	26
6.7.4.	Dilución de estándares.....	27
6.7.4.1.	Preparación de solución madre de 1000 ppm.....	27
6.7.4.2.	Primera dilución: obtención de solución intermedia de 10 ppm	28
6.7.4.3.	Segunda dilución: de 1 ppm, 10 ppm, 500 ppb y 50 ppb	28
6.7.5.	Curva de calibración de penicilina G, enrofloxacin y ciprofloxacina	29
6.7.6.	Fortificación de matriz de leche para la curva de calibración de clortetraciclina y oxitetraciclina	30
6.7.7.	Preparación de la muestra control fortificada.....	30
6.7.8.	Preparación de muestra.....	30
6.7.9.	Limpieza de muestra.....	31
6.7.10.	Análisis de muestras	31
6.7.11.	Detección y análisis cualitativo y cuantitativo por HPLC – MS/MS	32
6.7.12.	Análisis estadístico	37
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
7.1	Frecuencia de residuos de antibióticos en leche cruda de vaca	38
7.2	Concentraciones de los residuos de antibióticos en leche de vaca	43

VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	47
8.1 Conclusiones.....	47
8.2 Recomendaciones	47
IX. REFERENCIAS.....	48
X. ANEXOS.....	54
ANEXO 1: pruebas estadísticas	54
ANEXO 2: Normas sanitarias que establecen los límites máximos de residuos.....	56
ANEXO 3: Cromatografía LC - MS/MS en muestras de leche	56
ANEXO 4: Recolección de muestras de leche en la provincia de Canchis.....	63
ANEXO 5: Procesamiento de muestras en el Laboratorio de Farmacología de la escuela profesional de Medicina Veterinaria.	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fundamento del equipo HPLC	18
Figura 2. Cromatogramas obtenidos para 150ppb	32
Figura 3. Curva de calibración de ciprofloxacina	33
Figura 4. Cromatograma o pico de enrofloxacin.....	34
Figura 5. Curva de calibración de enrofloxacin.....	34
Figura 6. Cromatograma de penicilina.....	35
Figura 7. Curva de calibración de penicilina G.....	35
Figura 8. Cromatograma de tetraciclina.....	36
Figura 9. Frecuencia de residuos de antibióticos.....	40
Figura 10. concentraciones de residuos de tres antibióticos.....	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Frecuencia de residuos de antibióticos en la leche cruda de vaca expendidas en los mercados de la provincia de canchis.....	39
Tabla 2. Concentraciones de los residuos de antibióticos en la leche cruda de vaca expendida en los mercados de la provincia de Canchis.....	43

GLOSARIO

ACN : Acetonitrilo

CODEX : Codex Alimentarius (Conjunto de normas internacionales de inocuidad alimentaria)

CL : Cromatografía Líquida

LC–MS/MS : Liquid chromatography–tandem mass spectrometry (cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem)

HPLC : High performance liquid chromatography (cromatografía líquida de alta resolución o alto rendimiento)

DIGESA : Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria

FAO : Food and Agriculture Organization (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)

LMR : Límite máximo de residuos

MINSA : Ministerio de Salud del Perú

NTS : Norma Técnica Sanitaria

SENASA : Servicio Nacional de Sanidad Agraria

UE : Unión Europea

OMS : Organización Mundial de la Salud

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la frecuencia y cuantificar la concentración de residuos de antibióticos en leche cruda de vaca expendida en los mercados de la provincia de Canchis, Cusco. Se recolectaron 120 muestras, 15 por cada distrito, las cuales fueron analizadas mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS). La frecuencia de residuos se determinó mediante estadística descriptiva, mientras que la normalidad de las concentraciones se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($p=0.2544$), aplicándose posteriormente ANOVA y la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Se detectaron residuos de ciprofloxacina en 5%, penicilina G en 4.17% y enrofloxacin en 1.67% de las muestras. No se detectaron oxitetraciclina ni clortetraciclina. Las concentraciones promedio fueron 28.07, 3.21 y 14.69 $\mu\text{g/kg}$, respectivamente. Aunque ciprofloxacina y enrofloxacin estuvieron dentro de los LMR, una muestra superó ligeramente el LMR para penicilina G, evidenciando la necesidad de mantener un monitoreo continuo.

Palabras clave: Leche cruda, Residuos de antibióticos, LC-MS/MS, Seguridad alimentaria

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the frequency and quantify the concentration of antibiotic residues in raw cow's milk sold in markets in the province of Canchis, Cusco. A total of 120 samples were collected—15 from each district—and analyzed using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Residue frequency was determined using descriptive statistics, while the normality of concentrations was assessed via the Kolmogorov-Smirnov test ($p=0.2544$), followed by ANOVA and the Tukey test ($\alpha=0.05$). Residues of ciprofloxacin, penicillin G, and enrofloxacin were detected in 5%, 4.17%, and 1.67% of the samples, respectively. Neither oxytetracycline nor chlortetracycline was detected. Mean concentrations were 28.07, 3.21, and 14.69 $\mu\text{g/kg}$, respectively. Although ciprofloxacin and enrofloxacin levels fell within Maximum Residue Limits (MRLs), one sample slightly exceeded the MRL for penicillin G, highlighting the need for continuous monitoring.

Keywords: Raw milk, Antibiotic residues, LC–MS/MS, Food safety

I. INTRODUCCIÓN

La leche es uno de los alimentos más importantes para la nutrición humana, debido a su alto valor nutricional, aporta proteínas de alto valor biológico, lípidos, lactosa, vitaminas (A, D, B₂ y B₁₂) y minerales esenciales como calcio, fósforo y potasio (Leite & Freitas, 2025). Estos nutrientes son fundamentales para el crecimiento, la regeneración celular, el fortalecimiento óseo y la prevención de enfermedades crónicas (Rossi et al., 2018).

Por otro lado, la leche de vaca debe cumplir estrictos estándares de calidad e inocuidad antes de su distribución para su consumo (NTS, 2016). En la cadena productiva, desde el momento del ordeño hasta el procesamiento de derivados lácteos, la leche está expuesta a riesgos de contaminación física, biológica y química. Entre los riesgos químicos destaca la presencia de residuos farmacológicos, especialmente antibióticos, que pueden ingresar a la leche como consecuencia indirecta del tratamiento veterinario de las infecciones bacterianas comunes en el ganado lechero, tales como mastitis y metritis (Tomanić et al., 2025). Aunque el uso terapéutico de antibióticos es necesario para garantizar la salud animal, su uso inadecuado o excesivo y el incumplimiento de los periodos de retiro aumentan la probabilidad de que los residuos o metabolitos secundarios permanezcan en la leche (Sachi et al., 2019).

La ingestión continua de leche con residuos de antibióticos genera riesgos para la salud humana. Estas sustancias pueden desencadenar reacciones alérgicas e incluso choques anafilácticos en individuos sensibles, causar alteraciones gastrointestinales y reproductivas, y en algunos casos presentar potenciales efectos carcinogénicos. Además, la exposición crónica a concentraciones subterapéuticas de antibióticos a través de la dieta es un factor reconocido en la selección y diseminación de bacterias resistentes a antibióticos, contribuyendo así al problema global de resistencia antimicrobiana (Zhao et al., 2024). Por estas razones, el control de residuos en productos lácteos es una prioridad de salud pública y seguridad alimentaria.

Para proteger a los consumidores, las normas regulatorias establecen límites máximos

de residuos (LMR) en leche para cada antibiótico: por ejemplo, los antibióticos betalactámicos presentan un LMR de 4 µg/kg, mientras que las tetraciclinas y las fluoroquinolonas pueden tener LMR de hasta 100 µg/kg (NTS, 2016). La vigilancia efectiva de estos límites requiere métodos analíticos que sean sensibles y específicos para cada uno de los antibióticos.

En este contexto, la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS) se ha consolidado como una técnica analítica robusta y fiable. Su fundamento se basa en la separación cromatográfica de los compuestos según su afinidad por la fase estacionaria y fase móvil, seguida por la detección específica en la espectrometría de masas en tándem, que identifica analitos mediante la fragmentación de iones y el análisis de sus patrones de masa. Esta combinación proporciona alta sensibilidad, especificidad y proceso multiresidual, permitiendo la detección y cuantificación simultánea de múltiples antibióticos incluso a concentraciones muy bajas, lo que la hace adecuada para el control de calidad y la vigilancia de residuos en productos lácteos (Jank et al., 2017; Gaugain-Juhel et al., 2009; Zambrano et al., 2018; Odeny et al., 2024).

Los resultados de investigaciones que empleen HPLC-MS/MS para monitorear residuos de antibióticos en leche cruda de vaca contribuirán directamente a mejorar la inocuidad alimentaria y al cumplimiento de la normativa vigente, reduciendo los riesgos sanitarios asociados al consumo y apoyando las estrategias de gestión de la resistencia antibiótica (NTS, 2016).

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La producción lechera en la región altoandina del Perú constituye una actividad de gran importancia económica y social, debido a que representa una fuente significativa de ingresos para las familias dedicadas a la ganadería bovina. Sin embargo, la producción y comercialización de leche también enfrentan importantes desafíos relacionados con la inocuidad alimentaria, especialmente por la presencia de residuos de antibióticos en la leche destinada al consumo humano (Huamán, 2024; Villar et al., 2025). El uso terapéutico de antibióticos en bovinos lecheros es fundamental para el tratamiento y control de enfermedades bacterianas; no obstante, su administración inadecuada, excesiva o el incumplimiento de los periodos de retiro favorecen la presencia de residuos y metabolitos en la leche, generando riesgos potenciales para la salud pública (De la Flor, 2024). Diversos estudios señalan que estos residuos pueden ocasionar reacciones alérgicas en individuos sensibles, afectar la calidad de los productos lácteos y contribuir al desarrollo de resistencia antimicrobiana, considerada actualmente uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. En el Perú, los antibióticos más frecuentemente reportados en leche corresponden a penicilinas, fluoroquinolonas y tetraciclinas, entre ellas la penicilina, enrofloxacin y oxitetraciclina (Choque et al., 2020).

A pesar de la importancia sanitaria de este problema, en muchas zonas alto andinas del Perú aún existe limitada información sobre la presencia y concentración de residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en los diferentes mercados (Huaman Lloclla, 2024). Asimismo, el deficiente conocimiento sobre el uso responsable de medicamentos veterinarios, sumado a la limitada vigilancia y monitoreo en la cadena de producción láctea, especialmente en la provincia de Canchis, incrementa el riesgo de exposición continua de los consumidores a estos compuestos. Del mismo modo, son escasos los estudios locales que evalúan de manera precisa y cuantitativa los residuos de antibióticos presentes en leche cruda mediante técnicas

analíticas especializadas como la cromatografía LC-MS/MS en Tándem.

Frente a esta problemática, el presente estudio tiene como finalidad identificar y cuantificar residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en los mercados de la provincia de Canchis mediante cromatografía LC-MS/MS en tándem. Asimismo, busca generar evidencia científica que fortalezca la vigilancia sanitaria y promueva el uso responsable de antibióticos en la producción lechera.

2.1. Formulación del problema de investigación

2.1.1. Problema general

- ¿Cuál es la frecuencia de los residuos de antibióticos y en qué concentraciones se encuentran en la leche cruda de vaca expendida en los mercados locales de la provincia de Canchis?

2.1.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es la frecuencia de los residuos de antibióticos presentes en la leche cruda de vaca expendida en los mercados de la provincia de Canchis?
- ¿Cuáles son las concentraciones de los residuos de antibióticos en leche cruda de vaca expendida en los mercados de la provincia Canchis?

III. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

3.1. Objetivo general

- Evaluar la frecuencia y cuantificar la concentración de los residuos de antibióticos en leche cruda de vaca expendida en los mercados locales de la provincia de Canchis.

3.1.1. Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia de los residuos de antibióticos en la leche cruda de vaca expendida en los mercados de la provincia de Canchis.
- Cuantificar las concentraciones de los residuos de antibióticos detectados en leche cruda de vaca expendida en los mercados de la provincia de Canchis.

3.2. Justificación

Los antibióticos, se utilizan con frecuencia en la medicina veterinaria para tratar infecciones bacterianas en ganado lechero. Sin embargo, un uso inadecuado de estos medicamentos puede llevar a la presencia de residuos en la leche, más aún cuando no son controlados pueden tener repercusiones negativas para la salud humana y el medio ambiente (Trombete et al., 2014). La presencia de residuos de antibióticos en productos de origen animal, como la leche, queso y otros derivados tienen una gran relevancia en el ámbito de la seguridad alimentaria y la salud pública (Alenezi et al., 2024).

La detección de residuos en la leche es clave para proteger la salud pública y prevenir la resistencia a los antibióticos. Este estudio busca asegurar que la leche comercializada en Canchis cumpla con los límites máximos de residuos establecidos por entidades nacionales como SENASA, DIGESA/MINSA y SENAPES, así como por organismos internacionales como el Codex Alimentarius y la FDA. Detectar estos residuos garantiza la calidad y seguridad de los productos lácteos, reforzando la confianza del consumidor y mejorando la competitividad de los productores locales. Los hallazgos de este estudio contribuirán al uso adecuado y responsable de los antibióticos en ganaderías lecheras (NTS, 2016).

IV. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

La leche cruda de vaca expendida en los mercados de la provincia de Canchis presenta residuos de antibióticos, cuyas concentraciones en la mayoría de los casos, no exceden los límites máximos de residuos establecidos por la normativa sanitaria vigente.

V. MARCO TEÓRICO

4.1. Antecedentes de la investigación

4.1.1. Antecedentes internacionales

Leite & Freitas (2025) implementaron y validaron una metodología analítica por UHPLC-QTRAP-MS/MS para la determinación simultánea de 88 antibióticos en muestras reales de leche obtenidas en mercados locales (Supermercados). Este método demostró una alta selectividad y sensibilidad (precisos y fiables), con linealidades superiores a 0.95 mediante calibración con matriz de referencia. Los valores del límite de decisión ($CC\alpha$) oscilaron entre 1.3 y 239.4 $\mu\text{g/kg}$, mientras que los límites máximos de detección y cuantificación fueron de 22.33 y 44.85 $\mu\text{g/kg}$, respectivamente. Los resultados pusieron de manifiesto la presencia de macrólidos y sulfonamidas en muestras reales de leche provenientes de mercados locales, aunque en concentraciones inferiores a los límites regulatorios establecidos.

Rinky et al. (2025) evaluaron cinco antibióticos de uso veterinario en diversos tipos de leche en Bangladesh mediante RP-HPLC, encontrando oxitetraciclina en el 100% de las muestras y clortetraciclina, enrofloxacina, tetraciclina y doxiciclina estuvieron presentes en el 29.63, 22.22, 18.52 y 7.41%, respectivamente. Solo la oxitetraciclina se detectó tanto en leche cruda como procesada, mientras que las leches UHT y saborizadas concentraron la mayoría de los residuos múltiples. En total, el 37.04% de las muestras superó los LMR y el 44.44% estuvo cercano al límite, con la TC registrando la mayor concentración media. Se identificó una correlación positiva moderada a fuerte entre tetraciclina, clortetraciclina, doxiciclina y enrofloxacina, pero no para oxitetraciclina. Aunque no se evidenció un riesgo inmediato para la salud, el estudio advierte que la exposición continua podría ser preocupante.

Rame et al. (2025) cuantificaron las concentraciones y evaluaron los factores de riesgo asociados a residuos de antibióticos en leche de granjas lecheras periurbanas de Katmandú

(Nepal). Este estudio fue de corte transversal en 140 granjas y utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para el análisis de muestras de leche a granel. Los resultados evidenciaron la presencia de ciprofloxacina en el 46% de las muestras y de enrofloxacin en el 42%, además de que el 42% de las muestras positivas para ciprofloxacina superaron el límite máximo de residuos. Asimismo, las granjas con mayor número de vacas lecheras y terneros presentaron mayor probabilidad de contener residuos que excedían los LMR. Los autores concluyeron que existen factores de riesgo modificables relacionados con el manejo y uso de antibióticos en la industria láctea periurbana de Katmandú, por lo que recomendaron fortalecer las medidas de gestión y uso responsable de antibióticos en el control sanitario, así reducir el riesgo en la salud pública asociado a los residuos de antibióticos en leche.

Odeny et al. (2024) investigaron residuos de β -lactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas en leche cruda en Kenia mediante Charm TRIO® y LC-MS/MS. Entre los β -lactámicos, la dicloxacilina fue la más prevalente (9.3%), seguida de penicilina y cloxacilina (3.7% cada una) y nafcilina (0.9%). En tetraciclinas, la demeclociclina y tigeciclina mostraron la mayor frecuencia (10.3%), seguidas de oxitetraciclina (9.3%), clortetraciclina (7.5%) y doxiciclina (3.7%), mientras que la única sulfonamida detectada fue sulfaquinoxalina (4%). El LC-MS/MS confirmó todos los compuestos y reveló que las tetraciclinas superaron los LMR entre 3 y 10.5% de los casos y los β -lactámicos entre 2 y 33.3%. Los resultados evidencian un uso indebido de antibióticos y subrayan la necesidad de reforzar la regulación para asegurar la inocuidad de la leche.

Meklati et al. (2022) evaluaron residuos de antibióticos en 445 muestras de leche cruda en el centro-norte de Argelia mediante una prueba rápida y LC-MS/MS. De las 52 muestras confirmadas por LC-MS/MS, el 90.4% presentó contaminación y el 55.3% excedió los LMR, predominando β -lactámicos como cloxacilina (1231 $\mu\text{g/kg}$) y penicilina G (2062 $\mu\text{g/kg}$). Se identificaron falsos positivos de tetraciclinas asociados a elevada acidez y variaciones en el

contenido graso de la leche. La detección adicional de flumequina y cefaclor resalta la necesidad de fortalecer los controles para evitar riesgos tóxicos.

Tasci et al. (2021) evaluaron residuos de antibióticos en calostro, leche cruda de vaca y cabra, y leche UHT mediante LC-MS/MS, detectando contaminación en el 55.38 % de las muestras, principalmente por tetraciclina y sus derivados. Se observó que el 28.57% de las leches de cabra y el 8.82% de las de vaca excedieron los límites máximos de residuos. La presencia significativa de contaminantes indica que algunos productores no cumplen adecuadamente con las prácticas veterinarias de uso de fármacos. Estos resultados resaltan la necesidad de mejorar los controles y monitoreo para garantizar la inocuidad de la leche.

4.1.2. Antecedentes nacionales

Villar et al. (2025) compararon las pruebas SNAP DUO ST Plus y HPLC en 80 muestras de leche cruda en Huancayo, detectando residuos en 37.5% con SNAP DUO y 52.5 % con HPLC. Ambos métodos mostraron concordancia sustancial ($Kappa = 0.734$), con sensibilidad y especificidad de SNAP DUO de 89.3% y 95.3%, frente al desempeño del HPLC considerado 100 %. En términos económicos, SNAP DUO (S/. 7.24) resultó más costoso que HPLC (S/. 20.27). Los autores recomiendan SNAP DUO para monitoreo rutinario y reservan HPLC para confirmación y fines de investigación.

Llanos, (2002) determinó la presencia de residuos de antibióticos en leche fresca comercializada en la ciudad de Cajamarca. Se analizaron 216 muestras recolectadas entre diciembre de 1990 y febrero de 1991 en mercados, tiendas y fundos, utilizando métodos cualitativos basados en el cultivo de *Stearothermophilus* y la prueba Delvotest, con análisis realizados en los laboratorios Labrenor e Incalac (Baños del Inca). Los resultados evidenciaron positividad a residuos de antibióticos en 31 de 150 muestras de mercados (20.67%) y en 14 de 66 muestras de tiendas y fundos (21.21%), alcanzando una positividad promedio de 20.83%, lo que indica un alto nivel de contaminación, asociado a la falta de

control sanitario y al uso indiscriminado de antibióticos, constituyendo un riesgo para la salud pública, especialmente en lactantes y niños.

Guerrero et al. (2009) evaluaron la presencia de residuos de antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas en leche cruda de vaca comercializada en mercados del distrito del Callao. El análisis se realizó en 40 muestras recolectadas entre enero y marzo de 2009, empleando el método presuntivo de IDEX Laboratories para la detección de antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas, el cual cumple con los límites de sensibilidad establecidos por la FDA. Los resultados evidenciaron la presencia de residuos de antibióticos β -lactámicos en 16 de 40 muestras analizadas, lo que representa el 40% del total, mientras que no se detectaron residuos de tetraciclinas. Estos hallazgos sugieren la necesidad de fortalecer las políticas de legislación, regulación y capacitación, así como el cumplimiento de la Norma Técnica Peruana NTP 202.001.2003.

4.1.3. Antecedente regional

Huamán, (2024) analizó 96 muestras de leche cruda vendida en mercados de Cusco utilizando el kit TriSensorKIT035, para detectar β -lactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas. Los resultados mostraron que el 85.4% de las muestras estuvo libre de residuos, mientras que el 14.6% presentó residuos. De estas, 7.3% contenían residuos de tetraciclinas y 7.3% residuos de β -lactámicos, pero no se detectaron residuos de sulfonamidas.

4.2. Marco conceptual

4.2.1. Leche

La leche de vaca se define como el líquido producido por las vacas lecheras, compuesto principalmente por agua, 4.8 % de lactosa, un 3% de proteína (de la cual el 80 % es caseína), entre un 3% y un 4% de grasa y nutrientes esenciales como calcio, fósforo y diversas vitaminas: A, D, B₁₂ (Codex, 2024). Además, la leche es un recurso clave en la industria alimentaria, utilizado tanto en su forma líquida como base para productos lácteos derivados

como el queso, yogur y mantequilla. No obstante, la producción intensiva de leche puede llevar al uso de antibióticos en los animales para prevenir o tratar enfermedades, lo que genera preocupación por la presencia de residuos de estos medicamentos en la leche, lo cual podría representar un riesgo para la salud pública si no se controla adecuadamente (Cortes-Hernández et al., 2021).

4.2.2. Características y propiedades de la leche

La leche de vaca es rica en nutrientes esenciales, como proteínas, grasas, lactosa, vitaminas (A, D, B₂, B₁₂) y minerales (calcio, fósforo). Su pH es ligeramente ácido (6.6- 6.8) y tiene una densidad de 1.028-1.035 g/L. Presenta un color blanco opaco y sabor suave. Es fundamental para la salud y la producción de lácteos. Debe estar libre de contaminantes, como antibióticos y pesticidas, para evitar riesgos a la salud humana. Además, debe cumplir con parámetros fisicoquímicos (pH, densidad y contenido de sólidos) que confirmen su pureza. Sus características sensoriales, como color blanco homogéneo y sabor fresco, también son indicadores de su calidad. La cantidad de sólidos puede variar según la raza, alimentación y salud de la vaca (Codex, 2024).

4.2.3 Importancia de la leche en la alimentación humana

La leche es considerada un alimento esencial en la nutrición humana al aportar proteínas de alto valor biológico, calcio biodisponible, vitaminas y minerales clave para el desarrollo óseo, crecimiento y mantenimiento de la salud; su inclusión en las guías alimentarias y normas sanitarias de organismos como el Ministerio de Salud (MINSA) refuerza su papel en la prevención de deficiencias nutricionales y en el fortalecimiento de la seguridad nutricional de la población (Virto et al., 2022). En este contexto, la importancia de la leche en la alimentación de la población peruana también se refleja en su nivel de consumo, que alcanza aproximadamente 88,7 kg per cápita al año, lo que evidencia su relevancia dentro de la dieta nacional (MIDAGRI, 2026). Asimismo, el Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego señala

que la producción peruana de leche fresca alcanza aproximadamente 2,2 millones de toneladas anuales (MIDAGRI, 2026). Sin embargo, FAO utiliza en el Perú 120 kg/persona/año como nivel de consumo considerado deseable para el consumo (FAO, 2017).

4.2.4 Producción y comercialización de la leche a nivel nacional

En el Perú, la producción y consumo de leche presenta un crecimiento sostenido que refleja su relevancia económica y nutricional. Según el MIDAGRI (2024), el consumo per cápita alcanza los 84 kg por persona al año, mientras que la producción nacional de leche fresca de vacuno llegó a 2.19 millones de toneladas, con un crecimiento promedio anual del 2.3% en la última década. Del total producido, el 48% es destinado a la gran industria para la elaboración de productos como leche evaporada, condensada y yogures; el 42% a la industria artesanal para quesos y derivados, y el 10% restante al autoconsumo familiar (Norma Técnica Sanitaria, 2016). Las principales regiones productoras Cajamarca, Lima, Arequipa, La Libertad y Puno concentran el 63.9% del total nacional, consolidándose como las principales cuencas lecheras del país. Se prevé que las medidas de impulso al sector incrementen la demanda en un 5%, fortaleciendo así los ingresos de los productores y la seguridad alimentaria nacional (Norma Técnica Sanitaria, 2016).

4.2.5. Residuos de antibióticos

La contaminación de la leche con antibióticos representa una amenaza significativa para la seguridad alimentaria y la salud pública (Leite & Freitas, 2025), ya que pueden causar alergias, trastornos gastrointestinales, choques anafilácticos, daño de la médula ósea, cambios carcinogénicos y mutagénicos, problemas reproductivos y generar resistencia antibiótica, lo que dificulta el tratamiento de infecciones (Caneschi et al., 2023). Su impacto es mayor en niños y mujeres embarazadas, debido a su mayor riesgo biológico y a los posibles efectos sobre el desarrollo y la salud materno-fetal. Entre sus causas epidemiológicas destacan el uso

inadecuado de antibióticos en los animales, la falta de cumplimiento de los periodos de retiro, la automedicación veterinaria, el control sanitario insuficiente y la escasa vigilancia de residuos en la cadena de producción láctea (Arsène et al., 2022).

4.3. Antibiótico

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por microorganismos, sintéticamente o semi sintéticamente, que inhiben el crecimiento o destruyen bacterias, ayudando a combatir infecciones bacterianas en humanos, animales y plantas (Adams, 2003)

4.3.1. Clasificación de los antibióticos

Los antibióticos se clasifican según su mecanismo de acción, espectro de acción y origen. Según su mecanismo, pueden inhibir la síntesis de la pared celular (β -lactámicos), la síntesis de proteínas (tetraciclinas), la replicación de ácidos nucleicos (fluoroquinolonas) o alterar la función de la membrana celular (polimixinas). Por su espectro de acción, se dividen en amplio (tetraciclinas) o reducido (penicilina G). Según su origen, pueden ser naturales (producidos por microorganismos), semisintéticos (modificados químicamente) o sintéticos (creados en laboratorio). Esta clasificación ayuda a elegir el antibiótico adecuado para cada infección, optimizando la eficacia del tratamiento (Caneschi et al., 2023).

4.3.2. Farmacocinética

La farmacocinética se refiere a cómo el cuerpo del animal absorbe, distribuye, metaboliza y elimina los medicamentos, determinando la presencia y concentración de residuos en la leche. La oxitetraciclina y la clortetraciclina son tetraciclinas, que se absorben parcialmente en el tracto gastrointestinal, se distribuyen ampliamente, pero su biodisponibilidad oral es limitada. La amoxicilina y penicilina semisintética, tiene buena absorción oral, siendo rápidamente distribuida y eliminada por vía renal. Los antibióticos fluoroquinolonas como ciprofloxacina y enrofloxacin tienen excelente biodisponibilidad

oral, penetración tisular, y se eliminan principalmente por la orina (Anika et al., 2019).

4.3.3. Farmacodinamia

La farmacodinamia se refiere al estudio de los efectos biológicos de los fármacos y su mecanismo de acción en los organismos. En el caso de la oxitetraciclina y clortetraciclina, ambos antibióticos de amplio espectro, actúan inhibiendo la síntesis proteica bacteriana al unirse a la subunidad 30S ribosomal, lo que impide el crecimiento de la bacteria (Adams, 2003). La enrofloxacin y la ciprofloxacina, ambas fluoroquinolonas, inhiben el ADN girasa bacteriana, lo que interfiere en la replicación del ADN, siendo efectivas contra bacterias gram negativas y algunas gram positivas. Penicilina y cefalosporina y otro antibiótico betalactámico, interfiere con la síntesis de la pared celular bacteriana, debilitando la estructura celular y provocando su destrucción (Anika et al., 2019).

4.3.4. Periodo de retiro y límites máximos de residuos

a) Tetraciclinas

La oxitetraciclina y la clortetraciclina son antibióticos del grupo de las tetraciclinas cuyo uso en bovinos lecheros requiere un estricto control debido a su potencial de generar residuos en la leche y provocar efectos adversos. Ambos presentan un tiempo de retiro aproximado de 96 horas (4 días) (Vercelli et al., 2023). También pueden causar reacciones alérgicas, alteraciones gastrointestinales y afectar el microbiota; además, están contraindicados en animales con hipersensibilidad a tetraciclinas y en el caso de la clortetraciclina, su uso durante la preñez puede interferir con el desarrollo fetal. La clortetraciclina alcanza concentraciones de 2.55 µg/mL en leche entre 2 - 8 horas post-administración y disminuye a 0.25 µg/mL a las 48 horas, lo que evidencia su lenta eliminación (Anika et al., 2019). Para ambos fármacos, la normativa sanitaria establece un límite máximo de residuos (LMR) de 100 µg/kg, resaltando la importancia de respetar los tiempos de retiro para proteger

la salud pública (NTS.,2016).

b) Fluoroquinolonas

La enrofloxacin y la ciprofloxacina son fluoroquinolonas empleadas en bovinos lecheros que comparten un tiempo de retiro en leche de 72 horas (3 días), debido a su potencial de dejar residuos que representan un riesgo para la salud pública (Vercelli et al., 2023). Están contraindicadas en animales jóvenes por el riesgo de daño articular y en aquellos con hipersensibilidad a las fluoroquinolonas (Anika et al., 2019). La normativa sanitaria fija para ambos un límite máximo de residuos (LMR) de 100 µg/kg en leche, lo que subraya la necesidad de respetar los periodos de retiro para garantizar la inocuidad de los productos lácteos (NTS, 2016).

c) β-lactámicos

El periodo de retiro de penicilina G es de 72 horas o 3 días para leche (Vercelli et al., 2023). sensibilizar a personas susceptibles, aumentando el riesgo de reacciones alérgicas en tratamientos posteriores con este antibiótico. El límite máximo de residuos en leche está fijado generalmente en 4 µg/kg, lo que resalta la importancia de un control riguroso para garantizar la inocuidad del producto lácteo (NTS, 2016).

4.4. Métodos de identificación de residuos de antibióticos en leche

La detección de residuos de antibióticos en la leche es fundamental para garantizar la seguridad alimentaria y la salud pública. Existen diversos métodos para identificar estos residuos, que varían en sensibilidad, especificidad y costo. A continuación, se describen algunos de los métodos más utilizados.

4.4.1.Métodos microbiológicos

a. Método de las 5 placas

Este método utiliza cepas bacterianas sensibles para detectar residuos de antibióticos en la leche. Consiste en inocular varias placas con diferentes cepas bacterianas y observar la

inhibición del crecimiento, lo que indica la presencia de antibióticos. Este método es conocido por su bajo costo y facilidad de implementación, además de permitir la detección simultánea de varios antibacterianos (Tumini et al., 2019).

4.4.2. Métodos químicos

a. Métodos de cromatografía

La cromatografía líquida y la cromatografía de gases son técnicas analíticas comunes para la detección precisa de residuos de antibióticos. Estos métodos permiten separar los componentes de la muestra y cuantificar los residuos presentes (Hurtado et al., 2022).

b. Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC-MS/MS)

Utiliza un sistema de columnas para separar los compuestos en la leche, seguido por un detector que mide las concentraciones; la LC-MS/MS es una técnica analítica avanzada que combina la separación de compuestos mediante cromatografía líquida con la detección sensible y específica de estos mediante espectrometría de masas en tándem. Esta técnica es particularmente útil para la detección de residuos de antibióticos debido a su alta precisión y capacidad para detectar múltiples compuestos a concentraciones extremadamente bajas (Zambrano et al., (2018).

En el contexto de la detección de antibióticos betalactámicos en leche, la LC-MS/MS ha demostrado ser superior a otras técnicas como los métodos microbiológicos o los ensayos de inmune afinidad. La principal ventaja radica en su capacidad para identificar y cuantificar con precisión los residuos en presencia de otros componentes de la leche, lo que minimiza los falsos positivos y negativos (Gelb et al., 2022).

c. Cromatografía líquida de ultra alto rendimiento UHPLC

El equipo de UHPLC ofrece separaciones rápidas y altamente reproducibles mediante una presión de hasta 1000-1500 bar y un control preciso del flujo y la temperatura ($\pm 0,1$ °C).

Integra múltiples detectores (UV-Vis, DAD, ELSD, RID y fluorescencia), permitiendo el análisis simultáneo de diversos analitos con alta precisión. Su diseño modular, compatible con normas GMP/GLP, optimiza el flujo de trabajo y garantiza análisis confiables en laboratorios farmacéuticos, biotecnológicos y de investigación (Hurtado et al., 2022).

4.4.3. Kits o pruebas rápidas

a. SNAP DUO y BetaStar Combo

Los kits de detección de residuos de antibióticos en leche permiten realizar pruebas rápidas, con un tiempo de respuesta de aproximadamente seis minutos, y son capaces de identificar múltiples residuos, incluidos betalactámicos y tetraciclinas. Aunque son fáciles de usar y no requieren equipamiento especializado, su precisión es inferior a la de métodos analíticos más complejos, lo que puede limitar su efectividad en situaciones que exigen una identificación precisa de los residuos presentes (Rengifo, 2014).

b. Delvotest SP-NT

El Delvotest SP NT se utiliza para detectar residuos de sustancias antibacterianas, principalmente antibióticos, en muestras de leche, con el fin de verificar su inocuidad y cumplimiento de los estándares de calidad. Su principio se basa en la inhibición del crecimiento bacteriano en un medio de agar, evidenciada por la ausencia de cambio de color tras la incubación. Es una prueba automatizada, confiable y validada, que clasifica las muestras como positivas o negativas según la presencia de residuos de antibióticos (Hennart & Faragher, 2012).

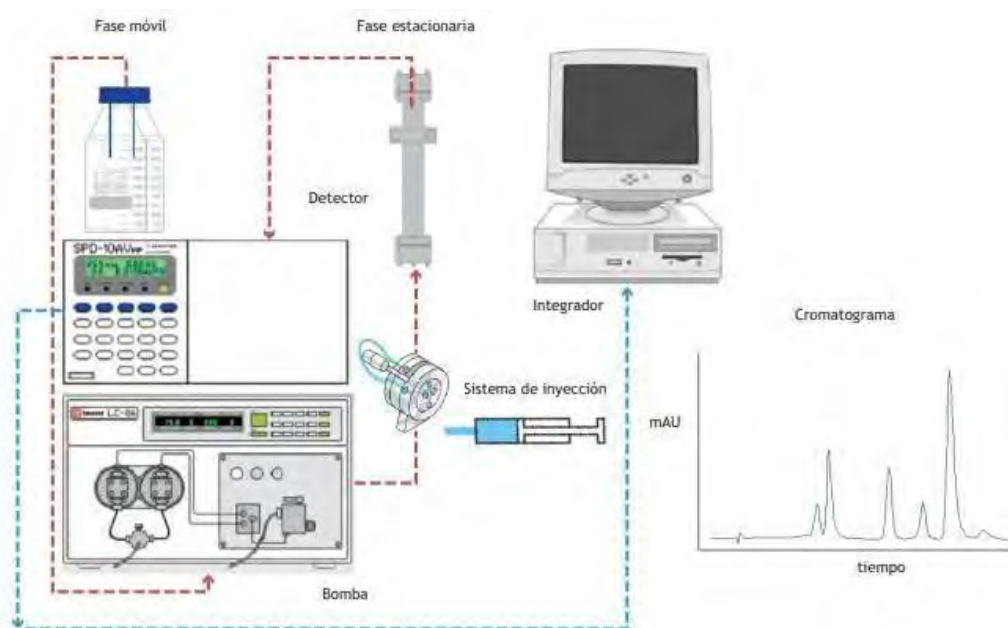
4.5. Fundamentos de equipo de HPLC

Actualmente, los avances en la instrumentación y la tecnología han permitido que la cromatografía líquida sea de alta resolución (HPLC). Esta técnica permite la separación física de los componentes de una mezcla mediante la interacción selectiva entre los solutos,

una fase estacionaria (material sólido contenido en la columna) y una fase móvil (solvente que fluye). El proceso automatizado de alta precisión mejora la eficiencia de separación y reduce significativamente el tiempo de análisis. El principio de funcionamiento se desarrolla en tres etapas: la inyección de la muestra, la separación de los analitos dentro de la columna y la detección, donde cada compuesto es identificado y cuantificado (Gelb et al., 2022).

En el esquema se observa cómo la muestra inyectada es arrastrada por la fase móvil a través de la columna, interactuando con la fase estacionaria y generando distintas velocidades de migración; finalmente, los compuestos eluyen hacia el detector, el cual transforma la señal química en una respuesta electrónica que se representa en el cromatograma, donde cada pico corresponde a un componente específico. La fase móvil se purga para evitar daños en la bomba o la columna, la bomba impulsa el flujo con alta precisión, el inyector introduce el volumen exacto de muestra y el detector convierte las señales en datos cuantificables que permiten interpretar la composición de la mezcla analizada (Zambrano et al., 2018).

Figura 1.



Fundamento del equipo HPLC. Tomando de Zambrano et al. (2018).

4.6. Impacto en la salud pública

El uso inadecuado de antibióticos en la producción animal genera residuos en carne, leche y huevos, afectando la salud pública. El incumplimiento de los periodos de retiro favorece la toxicidad antibiótica. Por ello, es esencial fortalecer la regulación y control de estos residuos para garantizar alimentos inocuos y seguros (Menkem et al., 2019).

El incumplimiento de los periodos de retiro y la falta de una regulación sanitaria eficiente en muchos países en desarrollo. Se ha evidenciado que sustancias prohibidas como el cloranfenicol, los nitrofuranos, las fluoroquinolonas y otros compuestos veterinarios pueden persistir en la carne y la leche, generando riesgos tóxicos, reacciones alérgicas y contribuyendo al desarrollo de resistencia antibiótica. En el caso de la leche, considerada un alimento esencial y de gran consumo, los residuos de antibióticos derivados del tratamiento de enfermedades como la mastitis o del uso de estos fármacos como promotores del crecimiento suelen originarse por prácticas inadecuadas de ordeño, procesamiento o dosificación, afectando la calidad e inocuidad del producto final (Muluyie et al., 2024).

Qamar et al. (2023) demostraron altos niveles de tetraciclinas en muestras de leche, confirmando su potencial impacto carcinogénico, mutagénico y en la alteración del microbiota intestinal. Así mismo los residuos de antibióticos está asociado con el desarrollo de cáncer, efectos reproductivos y hipersensibilidad Odeny et al., (2025). En conjunto, estos hallazgos evidencian que la contaminación de alimentos de origen animal por residuos antibióticos, no solo está comprometiendo la inocuidad alimentaria, sino también la sostenibilidad ambiental y la salud humana en general.

VI. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

6.1. Ubicación geográfica

La provincia de Canchis limita al norte con la provincia de Quispicanchis, al sur con el departamento de Puno, al este con la provincia de Canas y al oeste con la provincia de Acomayo. Canchis se encuentra aproximadamente a 3548 metros sobre el nivel del mar y a una distancia de 118 km de la ciudad de Cusco (Google Earth, 2025). El estudio se realizó en los mercados locales pertenecientes a los ocho distritos de la provincia de Canchis de la región de Cusco: Pitumarca, Checacupe, Combapata, Tinta, San Pedro, San Pablo, Sicuani y Marangani; los cuales se localizan en la vía que corresponde a la ruta nacional de 3S (longitudinal de la sierra sur).

Las 120 muestras de leche cruda fresca obtenidas se procesaron de inmediato en el Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, ubicado en la ciudad de Sicuani. Las condiciones de temperatura en el laboratorio se mantuvieron controladas entre 16 °C y 20 °C.

6.2. Enfoque de investigación

El estudio empleó un enfoque cuantitativo. Esto permitió identificar las frecuencias y la concentración de los residuos de antibióticos según los objetivos planteados.

6.3. Tipo de investigación

El trabajo de investigación observacional (sin la intervención o manipulación de las variables del estudio) y de corte transversal, por que se evaluó en un momento específico.

6.4. Población y muestra

6.4.1. Población

La población de estudio incluyó todos los mercados de abasto y los puntos de venta de leche cruda de vaca ubicados en los ocho distritos de la provincia de Canchis. En el distrito

de Sicuani, se consideraron los 2 mercados: Mercado Central y el Mercado la Bombonera, y otros puntos de venta dentro de la ciudad de Sicuani. En el distrito de Maranganí se consideró un mercado y otros puntos de venta. En los demás distritos (San Pablo, San Pedro, Tinta, Combapata, Checacupe y Pitumarca), la leche no se expende en el mercado, razón por la cual se han considerado otros puntos de venta.

Criterios de inclusión

- Muestras de leche cruda expandida en los mercados de abasto.
- Muestras de leche recolectadas en el volumen requerido.

Criterios de exclusión

- Muestras de leche pasteurizadas
- Muestras que interfieren deterioro al momento de traslado.

6.4.2. Muestra

El tamaño de la muestra se calculó tomando como referencia el trabajo de Brown et al. (2020), quienes informaron de una baja frecuencia de residuos de antibióticos beta- lactámicos del 7.4% ($p = 0.074$) en muestras de leche de vaca destinada al consumo humano. Para el cálculo, se consideró un nivel de confianza del 95% y una precisión del 4.7% ($d = 0.046$). Al tratarse de una población desconocida, se empleó la fórmula para poblaciones infinitas.

$$n = \frac{Z(\alpha)^2 * p * q}{d^2}$$

$$n = \frac{(1.96)^2 * 0.074 * 0.926}{(0.047)^2}$$

$$n = 119.17$$

Donde:

n = Tamaño de muestra

Z = Nivel de confianza 95% (1.96)

p = probabilidad de encontrar residuos de antibiótico 7.4% (0.074)

q = Probabilidad de no encontrar residuos 92.6% (0.926)

d = Precisión asumida 4.7% (0.047)

Por lo que resultó en un total de 120 muestras de leche, considerando los mercados de la provincia de Canchis.

6.5. Método de muestreo

Las 120 muestras fueron recolectadas entre los meses de septiembre y octubre del 2025, en los días de mayor concurrencia a los mercados y los puntos de venta. Se empleó el método de muestreo por conveniencia, considerando los ocho distritos de la provincia de Canchis. En cada uno de los distritos se recolectaron 15 muestras de leche cruda (un volumen de 0.5 L). Todas las muestras de leche fueron transportadas al laboratorio en recipientes herméticamente cerrados, garantizando su inocuidad.

Variables dependientes: Presencia y Concentración de residuos de antibióticos (penicilina G, ciprofloxacina, enrofloxacina, oxitetraciclina y clortetraciclina).

Variables independientes: Origen geográfico (Marangani, Sicuani, San Pablo, San Pedro, Tinta, Combapata, Checacupe y Pitumarca).

6.6. Materiales y equipos

6.6.1. Materiales biológicos

- Muestra de leche fresca de vaca

6.6.2. Materiales y equipos de laboratorio

a. Reactivos

- Antibióticos (soluciones madre) de 1000 ppm.

- Betalactámicos: penicilina G.
- Tetraciclinas: oxitetraciclina y clortetraciclina.
- Fluoroquinolonas: enrofloxacina y ciprofloxacina.
- Ag (agua): LC-MS (AG 0062500).
- Acetonitrilo: LC-MS (AC 03712500).
- Isopropanol (IPA).
- Ácido fórmico al 98-100% (utilizar al 0.1%).
- Metanol: LC-MS.
- Ácido acético: Grado HPLC.
- Solución EDTA de sal de disodio.

b. Materiales de laboratorio

- Fiola de 10 ml y 500 mL.
- Viales vidrio de 1.5 mL
- Vial de plástico de 1.8 mL
- Micropipeta de 100-1000 μ L
- Micropipeta de 20-200 μ L
- Micropipeta de 1-20 μ L
- Matraz aforado.
- Botella ámbar de 15 mL.
- Botella transparente de 6 mL.
- Puntas para micropipetas de 10-200 μ L
- Jeringa de 5 mL
- Filtro Econofiltr PPTFE 25 mm x 0.2 μ m
- Gradilla
- Papel toalla

- Tubos falcón
- Espátula.
- Probeta de 5 mL, 10 mL, 100 mL y 500 mL
- Vaso de precipitado de 100 mL, 150 mL y 2000 mL
- Sistema de filtrado (campana de recipiente 1 L, tapa retenedora de membrana, membrana de nylon embudo con pinza).
- Piceta de 100 mL
- Columna C18 (2.7 μm).

c. Equipos de laboratorio

- Balanza analítica
- Cabina de flujo laminar
- Refrigeradora
- Congeladora
- Vórtex
- Centrífuga refrigerada
- CL-MS-MS/ cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem.
- Incubadora digital
- Homogeneizador de cerámica
- Evaporador de nitrógeno
- Balanza analítica de precisión
- Bomba de vacío

6.6.3. Materiales de escritorio

- Laptop
- Cuaderno de registro

- Cámara digital
- Papel bond A4
- Impresora
- Lapicero o lápiz

6.7. Metodología

6.7.1. Preparación de estándares

- Para preparar los estándares de antibióticos, se realizó un lavado con Ag Agua: LC-MS (AG0062500) en 5 fiolas de 10 mL y fueron esterilizados a 65°C para eliminar microorganismos o impurezas.
- Se pesó 10 mg de antibiótico sólido en una balanza analítica para cada antibiótico (penicilina G, ciprofloxacina, enrofloxacin, oxitetraciclina y clortetraciclina), obteniéndose una concentración de 1000 ppm (1 mg/mL).
- Seguidamente se adicionó los solventes de acuerdo al tipo de antibiótico como agua grado LC-MS o Metanol grado LC-MS hasta la mitad de la fiola y llevar al vórtex para su disolución completa, una vez disuelta agregar el solvente hasta el menisco de la fiola según corresponda a cada antibiótico respectivo.
- Finalmente, los estándares obtenidos fueron rotulados y refrigerados en sus fiolas correspondientes para su posterior uso.

6.7.2. Preparación de fase móvil

- Se armó el sistema de filtrado, colocando en la campana el recipiente de 1L, colocar la tapa retenedora de membrana y membrana de Nylon, enseguida el embudo y la pinza, luego se coloca la manguera de vacío y se filtra la cantidad requerida de fase móvil.
- La fase móvil tuvo dos etapas: a) agua grado LC-MS/MS y b) acetonitrilo grado LC-MS/MS. La cantidad a filtrar es de 250 mL a 500 mL de cada reactivo

dependiendo a la cantidad de muestra, luego se coloca a cada botella de fase móvil ácido fórmico a una concentración de 0.1%.

- Una vez agregadas la fase A (agua grado LC/MS) y la fase B (acetonitrilo), se procedió a purgar el sistema desde el software, con el fin de eliminar posibles burbujas en las fases móviles y asegurar así un flujo continuo, estable y libre de interferencias durante el análisis cromatográfico.

6.7.3. Preparación de soluciones

- **Solución 01:** Se pesó 3.72 g de solución EDTA en una fiola de 100 mL, agregar agua ultra pura hasta la mitad de la fiola y llevar al vórtex por 10 minutos, una vez disuelta agregar agua ultrapura hasta el menisco de la fiola. Esta solución se empleó específicamente como agente quelante durante el proceso de extracción, cumpliendo la función de unirse a los iones metálicos presentes en la muestra y evitando que interfieran en la eficiencia y precisión del análisis.
- **Solución 02:** Se mezclaron 2 mL de ácido fórmico con 98 mL de acetonitrilo previamente congelado a -34°C (ACN congelado). Esta mezcla se utilizó como fase de extracción y homogenización de las muestras, facilitando la adecuada separación y detección de analitos.
- **Solución 03:** Se preparó una mezcla de 90 mL de acetonitrilo con 10 mL de agua ultrapura, utilizada en la etapa de filtración final para arrastrar residuos en el cartucho EMR.
- **Solución 04:** Se colocaron 15 mL de agua ultrapura en una botella ámbar, empleada en la fase de dilución final antes del análisis instrumental.
- **Solución 05:** Se mezclaron 7.5 mL de acetonitrilo con 7.5 mL de agua grado LC-MS en una botella ámbar, solución utilizada para reconstituir las muestras previo

a la inyección en el sistema LC-MS/MS.

6.7.4. Dilución de estándares

Para la preparación de los estándares de penicilina G, enrofloxacin, ciprofloxacina, clortetraciclina y oxitetraciclina se aplicó un procedimiento sistemático de dilución, mediante el cual se ajustaron las concentraciones hasta obtener una solución final de 1 ppm. Esta concentración fue la adecuada para la elaboración de la curva de calibración, fundamental en el análisis de residuos de antibióticos mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS), garantizando así precisión y confiabilidad en la cuantificación.

6.7.4.1. Preparación de solución madre de 1000 ppm

Utilizando una balanza analítica de alta precisión se pesaron 10 mg de cada antibiótico (Penicilina G, Enrofloxacin y Ciprofloxacina), los cuales fueron transferidos a sus respectivas fioles. A cada una se añadió agua grado LC-MS hasta completar un volumen final de 10 mL. En el caso de la Clortetraciclina y la Oxitetraciclina, se utilizó metanol como disolvente. Finalmente, todas las soluciones fueron homogeneizadas en un vórtex durante 5 minutos, asegurando así su completa disolución y estabilidad.

Concentración inicial (C_i) de penicilina G, Enrofloxacin, Ciprofloxacina, Oxitetraciclina, Clortetraciclina.

$$C_i = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{1 \text{ mg} * 1000 \text{ ppm}}{\text{mL}} = 1000 \text{ ppm}$$

6.7.4.2. Primera dilución: obtención de solución intermedia de 10 ppm

Para reducir la concentración de 1000 ppm a 10 ppm, se aplicó la fórmula general de diluciones:

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

Donde:

- $C_1 = 1000$ ppm (concentración inicial)
- $C_2 = 10$ ppm (concentración deseada)
- $V_2 = 10$ mL (volumen final deseado)
- $V_1 =$ (volumen a tomar de la solución madre)

Volumen requerido de cada solución estándar de Penicilina G, Enrofloxacin, Ciprofloxacina, Oxitetraciclina y Clortetraciclina.

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

$$V_1 = \frac{10pp * 1000\mu L}{1000ppm} = \frac{10000 ppm/\mu L}{1000ppm} = 10 \mu L$$

6.7.4.3. Segunda dilución: de 1 ppm, 10 ppm, 500 ppb y 50 ppb

Oxitetraciclina y clortetraciclina: Se preparó una solución mixta denominada Mix 0 con una concentración final de 10 ppm, compuesta por Penicilina G, Ciprofloxacina y Enrofloxacin. Para ello, se tomaron 10 μ L de cada estándar (30 μ L en total) de la primera dilución de 10 ppm y se completó el volumen con 970 μ L de la solución 5 (agua grado LC-MS y acetonitrilo grado LC-MS) en un vial de vidrio (Tabla 3.1). Conjuntamente, se prepararon soluciones individuales de oxitetraciclina y clortetraciclina a 10 ppm, extrayendo 10 μ L de cada una de sus soluciones madre y completando con 990 μ L de metanol grado LC-MS en viales de vidrio. Posteriormente, a partir de estas soluciones, se elaboró el Mix A

con una concentración de 1 ppm, conformado por Penicilina G, Ciprofloxacina y Enrofloxacin. Para ello, se transfirieron 100 μL de Mix 0 (10 ppm) y se diluyeron con 900 μL de solución 5 en un vial rotulado. Al mismo tiempo, se realizaron diluciones individuales de Oxitetraciclina y Clortetraciclina, tomando 100 μL de cada estándar de 10 ppm y completando con 900 μL de metanol grado LC-MS, obteniendo soluciones finales de 1 ppm.

Estas preparaciones se destinaron para la curva de calibración analítica. Finalmente, a partir de Mix A (1 ppm), se obtuvo el Mix B con una concentración de 500 ppb, mezclando 500 μL de Mix A con 500 μL de solución 5. Luego, se preparó el Mix C con una concentración de 50 ppb mediante la dilución de 100 μL de Mix B en 900 μL del mismo disolvente. Todas estas soluciones se acondicionaron en viales de vidrio y se utilizaron para la construcción de la curva de calibración en niveles trazados.

6.7.5. Curva de calibración de penicilina G, enrofloxacin y ciprofloxacina

Para la calibración de la curva correspondiente a los antibióticos penicilina G, enrofloxacin y ciprofloxacina, se prepararon cinco puntos de concentración: 10 ppb, 25 ppb, 50 ppb, 100 ppb y 150 ppb. Cada punto fue preparado en un volumen final de 800 μL , utilizando una matriz blanca de leche cruda (libre de antibióticos), soluciones estándar y agua ultrapura. Para el nivel de 10 ppb, se preparó una solución utilizando 16 μL de la mezcla estándar Mix C (50 ppb), a la cual se añadieron 500 μL de matriz blanca de leche cruda y 284 μL de agua ultrapura. Para los niveles de 25, 50, 100 y 150 ppb, se emplearon diluciones a partir de Mix B (500 ppb), incorporando volúmenes específicos de 4, 8, 16 y 24 μL , respectivamente, junto con 500 μL de matriz leche. El volumen final se completó con agua ultrapura, ajustando 296 μL para 25 ppb, 292 μL para 50 ppb, 284 μL para 100 ppb y 276 μL para 150 ppb, garantizando así la obtención de soluciones exactas para la curva de calibración (Tabla 3.2).

6.7.6. Fortificación de matriz de leche para la curva de calibración de clortetraciclina y oxitetraciclina

Para la elaboración de la curva de calibración de los antibióticos Clortetraciclina y Oxitetraciclina, se fortificaron muestras de matriz de leche con el estándar a una concentración de 1 ppm en distintos volúmenes, simulando diferentes niveles de residuos. Se pesaron 2 gramos de leche cruda en seis tubos Falcón de 50 mL (tres destinados a clortetraciclina y tres a oxitetraciclina), a los cuales se añadieron volúmenes progresivos de la solución estándar (100 μ L, 200 μ L y 300 μ L, respectivamente). Finalmente, las muestras se dejaron en reposo durante 20 minutos, asegurando la adecuada incorporación de los antibióticos a la matriz.

6.7.7. Preparación de la muestra control fortificada

Para la preparación de la muestra blanca fortificada, se pesó 2 gramos de muestra de leche cruda libre de antibióticos, la cual fue utilizada como matriz control. A esto se agregó 100 μ L del Mix C (50 ppb), que contiene los antibióticos penicilina G, enrofloxacin y ciprofloxacina, con el objetivo de verificar la recuperación y exactitud del método analítico. Esta fortificación permitió obtener una muestra control con una concentración conocida de antibiótico, asegurando que el resultado refleje la cantidad añadida y sirva como punto de validación durante el análisis de las muestras por LC-MS/MS.

6.7.8. Preparación de muestra

- Se obtuvo una muestra de leche de 0.5 L expende de los diferentes mercados de la provincia de Canchis, se rotuló y etiquetó la procedencia.
- Para la extracción de muestra se pesó 2 g de leche en una balanza de precisión.
- Se agregaron cuidadosamente 2 homogeneizadores cerámicos así mismo agregar 2 mL de solución EDTA y llevar al vórtex por 2 minutos.
- Posteriormente se agregó a cada tubo 8 mL de solución 2 (ácido fórmico 2 ml más acetonitrilo 98 mL) una vez agregada se llevó al vórtex por 5 minutos.

- A continuación, las muestras se centrifugaron a 4000 rpm por 10 minutos y posteriormente se colocaron en una gradilla.

6.7.9. Limpieza de muestra

- Se preparó el equipo de filtrado al vacío Vac Elut, y se colocó una botella transparente de 5 mL de capacidad para la recolección del filtrado, junto con el cartucho de limpieza EMR-Lipid de Agilent (este cartucho se utilizó para la remoción selectiva de lípidos y proteínas presentes en la matriz láctea, obteniendo un matriz más limpio para su posterior análisis).
- Se agregaron 2.4 mL del extracto (contenido en la botella ámbar) al tubo de limpieza EMR. A continuación, se encendió la bomba de vacío para permitir el filtrado hasta que cayera la última gota. Seguidamente, se añadieron 0.6 mL de la solución 3 (acetonitrilo y agua grado LC-MS) al filtro, y se volvió a activar el vacío.
- Después de completar el proceso de filtrado, el extracto se mezcló manualmente con el fin de asegurar una correcta homogeneización.
- Luego, se transfirieron 0.5 mL del extracto final a un vial de vidrio correctamente identificado (con fecha, lugar y tipo de muestra), al cual se añadieron 0.3 mL de la solución 5 (agua ultrapura). Posteriormente, la mezcla se agitó en el vórtex durante 1 minuto antes de su análisis en el equipo LC-MS/MS.

6.7.10. Análisis de muestras

- Para realizar el análisis se programó en el software Masshunter Quantitative.
- Una vez programado el software y calibrada la curva para los antibióticos y verificado el resultado de la muestra control, los extractos obtenidos de la muestra (capa orgánica) en los viales fueron colocados en una de las cámaras

del multisampler, siguiendo la ubicación de los casilleros A1/1-9 (columna) o A1/a-f (fila). Es importante mencionar que en la casilla A1 se colocó un vial blanco con acetonitrilo puro, con el fin de evitar contaminación entre muestras. Finalmente, se procedió a correr las muestras para su análisis, destinando 17 minutos por cada vial.

6.7.11. Detección y análisis cualitativo y cuantitativo por HPLC – MS/MS

Los resultados del análisis cromatográfico y la curva de calibración obtenida durante la cuantificación de ciprofloxacina se muestran en los cromatogramas (Figura 2) se observa un pico bien definido y simétrico con un tiempo de retención aproximado de 5.2 minutos, correspondiente al compuesto analizado, lo que indica una separación adecuada y una detección clara de la sustancia en la muestra. En la (Figura 3) se presenta la curva de calibración construida a partir de diferentes concentraciones del estándar, donde se aprecia una relación lineal entre la concentración y la respuesta del detector, con un coeficiente de correlación (R^2) cercano a 1, lo que demuestra una excelente linealidad del método y la confiabilidad de los resultados obtenidos para la cuantificación del analito.

Figura 2.

Cromatogramas obtenidas para 150ppb con un tiempo de retención de 5.222 minutos

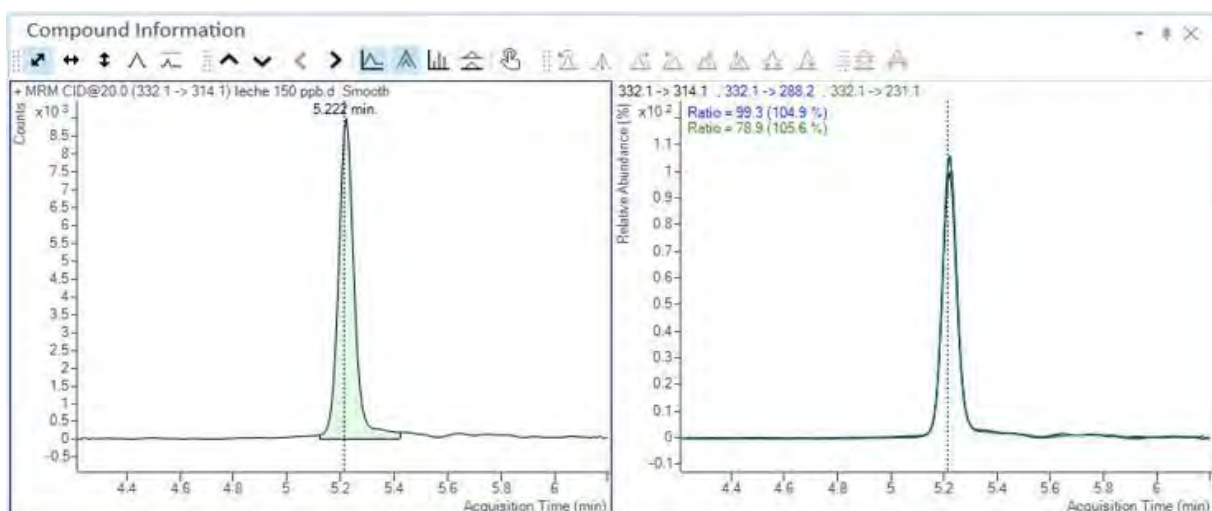
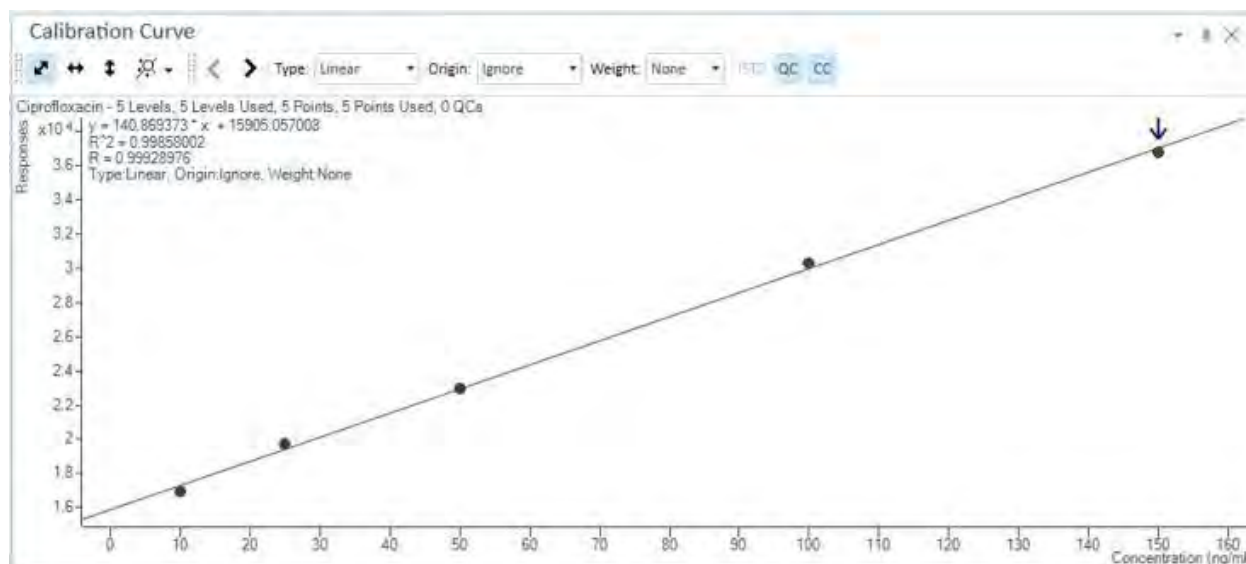


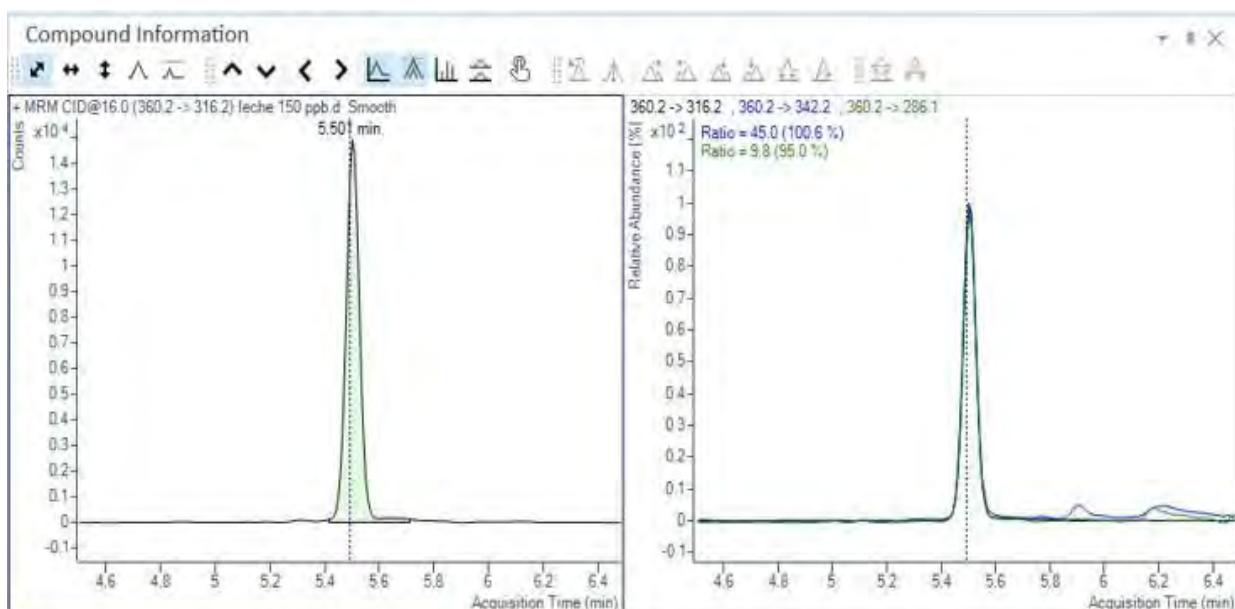
Figura 3.*Curva de calibración de ciprofloxacina*

Nota: Relaciona la concentración del estándar (eje X) con la respuesta del detector (eje Y). Esta gráfica se usa para determinar la linealidad del método y cuantificar la concentración del compuesto en las muestras.

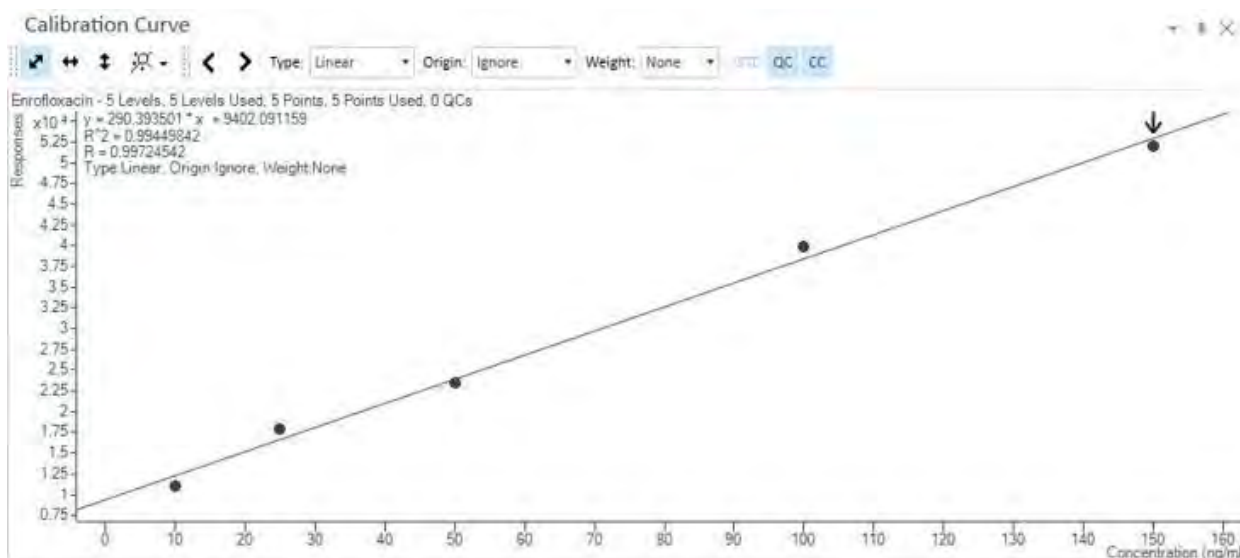
La Figura 4 y Figura 5 representan los cromatogramas obtenidos para la detección de enrofloxacin mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS). En ambos se observa un pico intenso, definido y simétrico con un tiempo de retención cercano a 5.95 minutos, lo que confirma la presencia del antibiótico en la muestra y demuestra que el método analítico logró una separación eficiente y una detección específica del compuesto. La ausencia de picos secundarios o interferencias sugiere una alta pureza y selectividad del análisis, mientras que la coincidencia de las transiciones iónicas monitoreadas válida la identificación y cuantificación precisa de la enrofloxacin bajo las condiciones establecidas.

Figura 4.

Cromatograma o pico de enrofloxacin a una concentración de 150 ppb (picos)

**Figura 5.**

Curva de calibración de enrofloxacin, con un coeficiente de determinación 0.99



Para la penicilina se observa un pico bien definido y simétrico con un tiempo de retención aproximado de 8.01 minutos, correspondiente al compuesto analizado, lo que indica una separación adecuada y una detección clara de la sustancia en la muestra. En la (figura 6) se presenta la curva de calibración construida a partir de diferentes concentraciones del

estándar, donde se aprecia una relación lineal entre la concentración y la respuesta del detector, con un coeficiente de correlación (R^2) cercano a 1, lo que demuestra una excelente linealidad del método y la confiabilidad de los resultados obtenidos para la cuantificación del analito.

Figura 6.

Cromatograma de penicilina con un tiempo de retención de 8.01 minutos

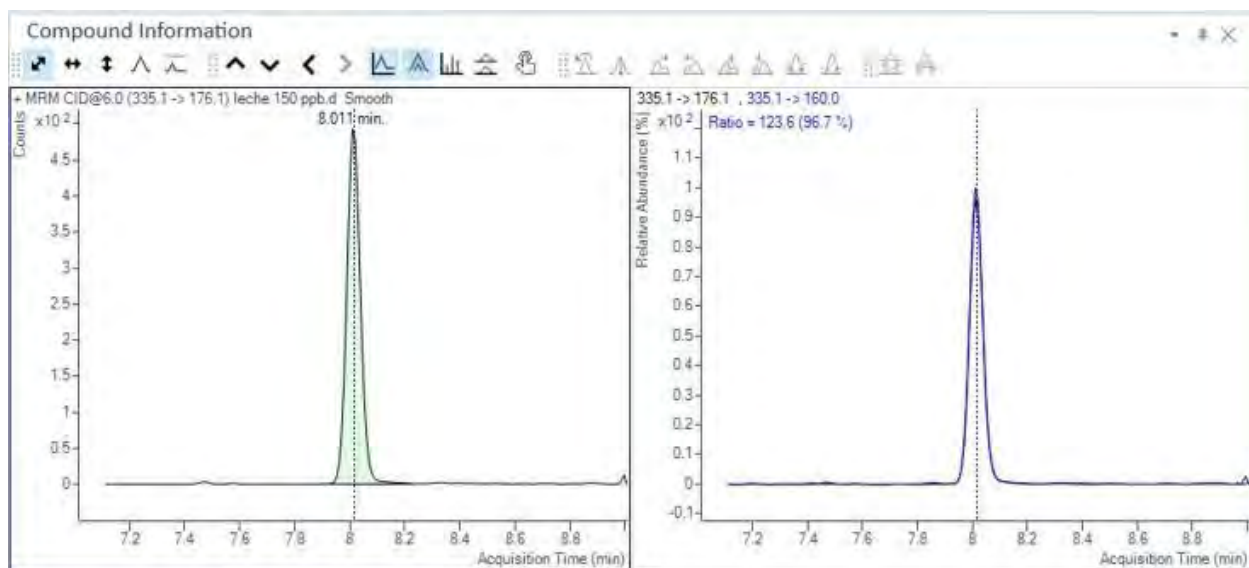


Figura 7.

Curva de calibración de penicilina G, Esta gráfica se usa para determinar la linealidad del método y cuantificar la concentración del compuesto en las muestras

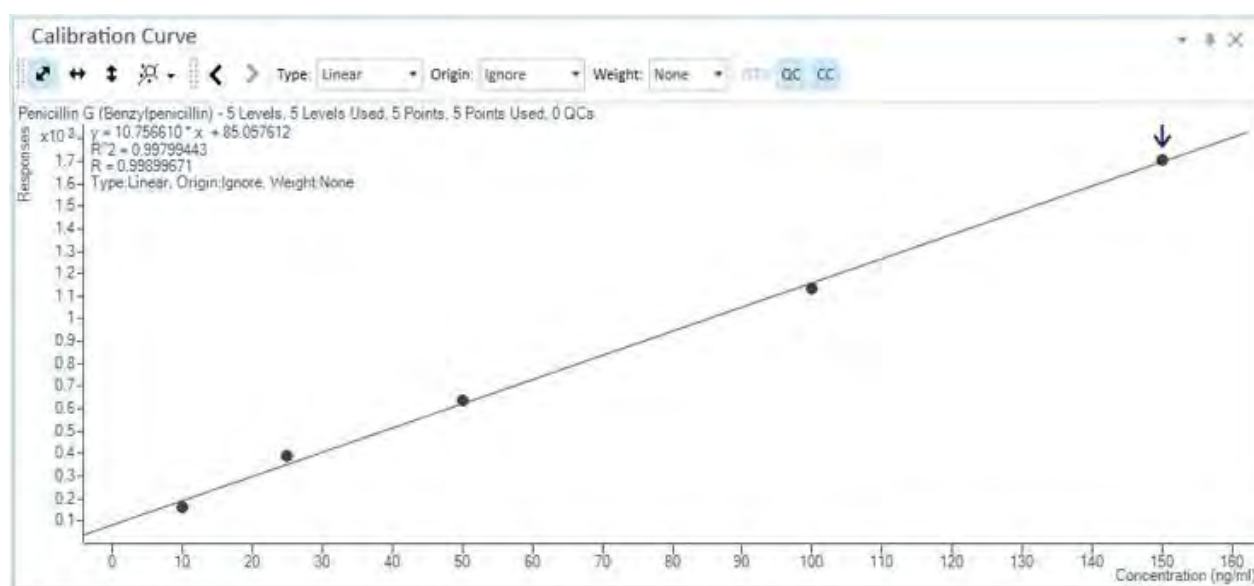
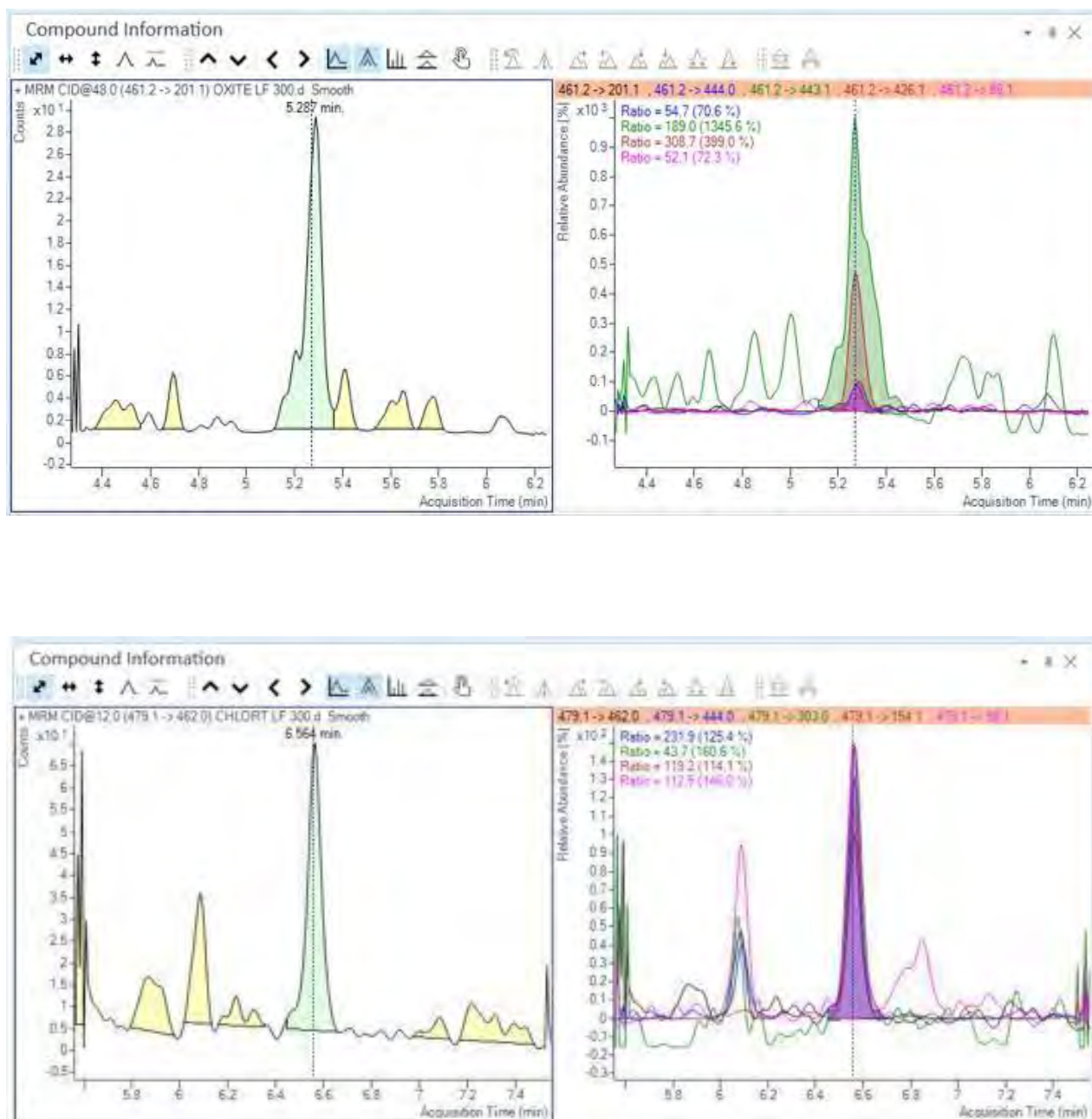


Figura 8.

Cromatograma de oxitetraciclina con un tiempo de retención de 5.3 minutos y clortetraciclina de 5.6 minutos, respectivamente



6.7.12. Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó utilizando el software estadístico R (versión 4.4.1), herramienta que permitió realizar tanto análisis descriptivos como inferenciales. Para el primer objetivo, se aplicó la estadística descriptiva, calculando las frecuencias absolutas y relativas, según los mercados para cada antibiótico.

Para el segundo objetivo, se realizó una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov ($p = 0.2544$), teniendo en cuenta únicamente los residuos que dieron positivo. Dado que las concentraciones de los antibióticos cumplían con este supuesto, se optó por la estadística paramétrica: utilizando el análisis de varianza de un factor (ANOVA) y la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) para comparar las concentraciones de los distintos residuos de antibióticos detectados (ciprofloxacina, enrofloxacin y penicilina G). Además, de los promedios se consideraron las medidas de dispersión como el error estándar, los valores mínimos y máximos de dichas concentraciones, para comparar con los límites máximos de residuos.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Frecuencia de residuos de antibióticos en leche cruda de vaca

En la provincia de Canchis se observaron bajas frecuencias de residuos de ciprofloxacina (5%), penicilina G (4.17%) y enrofloxacin (1.67%). No se detectaron residuos positivos para oxitetraciclina y clortetraciclina en las muestras de leche analizadas (Tabla 1; Figura 9).

En la ciudad de Sicuani (puntos de venta) los residuos positivos para los antibióticos analizados (ciprofloxacina y penicilina G) fueron los más abundantes, con una frecuencia relativa del 13.33% (2/15) para cada uno, seguidos de un caso positivo para enrofloxacin 6.67% (1/15). En Combapata, la frecuencia de residuos de ciprofloxacina, penicilina G y enrofloxacin fue del 6.67% (1/15) para cada uno. En Maranganí, la frecuencia de residuos de ciprofloxacina y penicilina G fue del 6.67% (1/15) para cada uno (Figura 9). En Pitumarca, se identificó un caso positivo de residuos de ciprofloxacina 6.67% (1/15), en San Pedro un caso positivo de residuos de penicilina G 6.67% (1/15) y en San Pablo un caso de residuos de ciprofloxacina 6.67% (1/15).

Tabla 1

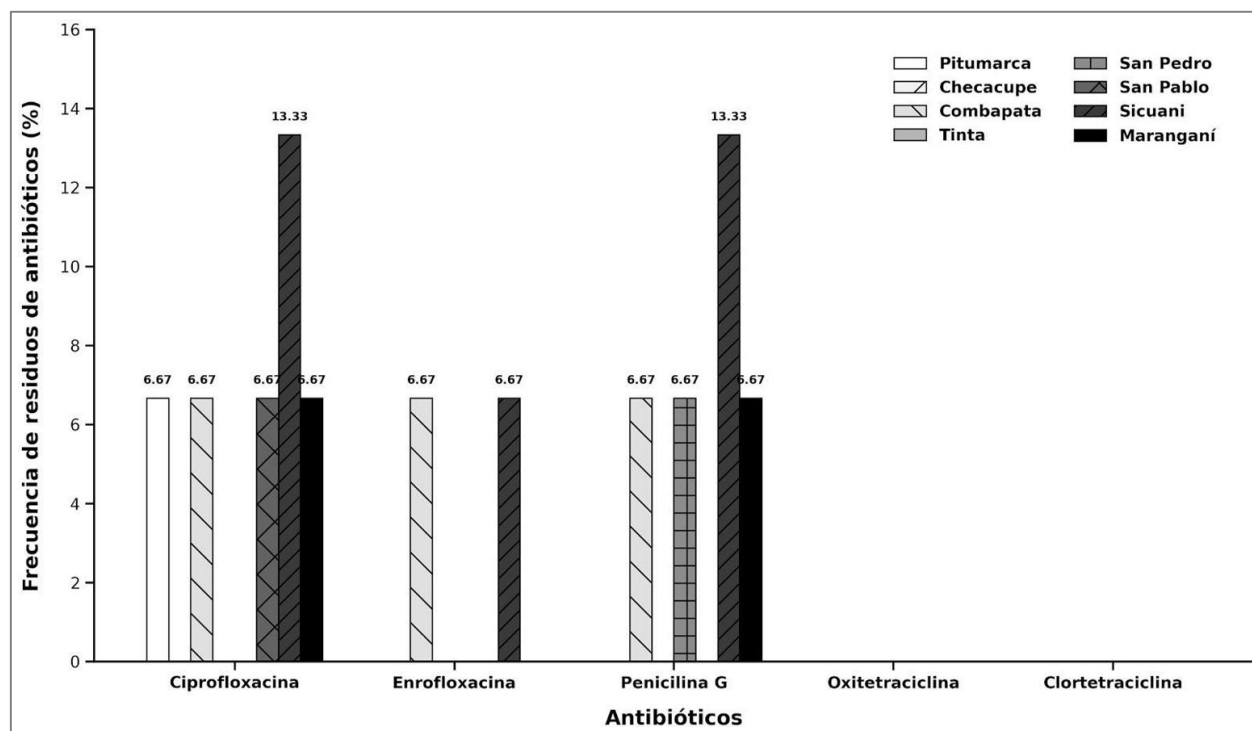
Frecuencia de residuos de antibióticos en la leche cruda de vaca expendida en los mercados de la provincia de Canchis

Mercados	n	Ciprofloxacina		Enrofloxacin		Penicilina G		Oxitetraciclina		Clortetraciclina	
		FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)
Pitumarca	15	1	6.67	0	0	0	0	0	0	0	0
Checacupe	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Combapata	15	1	6.67	1	6.67	1	6.67	0	0	0	0
Tinta	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
San Pedro	15	0	0	0	0	1	6.67	0	0	0	0
San Pablo	15	1	6.67	0	0	0	0	0	0	0	0
Sicuani	15	2	13.33	1	6.67	2	13.33	0	0	0	0
Marangani	15	1	6.67	0	0	1	6.67	0	0	0	0
Canchis	120	6	5	2	1.67	5	4.17	0	0	0	0

n: número de muestras evaluadas. FA: frecuencia absoluta. FR: frecuencia relativa.

Figura 9.

Frecuencia de residuos de antibióticos detectados mediante la técnica LC- MS/MS en la leche cruda de vaca expendida en los mercados de la provincia de Canchis



De acuerdo con los resultados obtenidos, la ciprofloxacina alcanzó una frecuencia del 13.33% en Sicuani y del 6.67% en cada uno de los mercados de Pitumarca, Combapata, San Pablo y Marangani. Nuestro resultado es mucho menor al 46% reportado por Rame et al. (2025), quienes analizaron residuos de antibióticos en la leche de granjas lecheras periurbanas de Katmandú (Nepal), atribuyendo su presencia al uso frecuente e inadecuado de estos antibióticos, al incumplimiento de los periodos de retiro y a la ausencia de programas de vigilancia y control. Por otro lado, Leite y Freitas (2025) analizaron 88 antibióticos y validaron el método UHPLC-MS/MS para determinar las clases de antibióticos con mayor probabilidad de transferirse a la leche, que comprendían tetraciclinas, sulfonamidas, diaminopirimidinas, macrólidos, fluoroquinolonas, anfenicoles, penicilinas, cefalosporinas, sulfonas y otros antibióticos. Estos autores reportaron muy baja frecuencia de residuos de

macrólidos y sulfonamidas en leche de vaca, con concentraciones dentro de los límites permisibles según el reglamento de la Unión Europea, garantizando la seguridad alimentaria y la salud pública. Asimismo, señalaron como causas el uso de antibióticos como promotores de crecimiento, el uso excesivo y el inadecuado cumplimiento del periodo de retiro.

Los residuos de enrofloxacin en Combapata y Sicuani presentaron una frecuencia de 6.67%, inferior al 42% reportado por Rame et al. (2025). Por otro lado, Rinky et al. (2025) reportaron un 22.22% de enrofloxacin en leche de vaca procesada y cruda en Dhaka, Bangladesh, cifra superior a la encontrada en la presente investigación. Esta diferencia podría relacionarse con el incumplimiento del periodo de retiro y el uso de antibióticos como promotores de crecimiento, causas señaladas por Rinky et al. (2025). Asimismo, las buenas prácticas de manejo permiten obtener leche sin residuos, destacando la importancia del control y vigilancia sanitaria.

Odeny et al. (2024) reportaron una frecuencia de 3.7%, indicando un mejor control en la administración de antibióticos y una aplicación más adecuada de las buenas prácticas pecuarias, lo cual concuerda con nuestro resultado de residuos de penicilina G. Estos autores señalaron que la presencia de residuos puede relacionarse con el uso excesivo de antibióticos, la dosificación incorrecta, el ordeño de vacas bajo tratamiento y la falta de supervisión veterinaria. Sin embargo, Guerrero et al. (2009) y Llanos (2002) reportaron altas frecuencias de residuos de antibióticos β -lactámicos en leche de vaca, asociadas a la necesidad de fortalecer el control sanitario; Guerrero et al. (2009) sugirieron además fortalecer las políticas de legislación, regulación y capacitación sobre el uso de antibióticos en la producción lechera. Estos autores no identificaron sus respectivas concentraciones.

Guerrero et al. (2009), en el distrito del Callao, reportaron un nivel de sensibilidad analítica de 3.0 ppb, valor que se encuentra dentro de los límites establecidos por la FDA,

evidenciando un adecuado control de residuos antibióticos en la leche destinada al consumo humano. En contraste, los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron frecuencias de residuos de antibióticos, especialmente en Sicuani (13.33%) y en menor proporción en Combapata, San Pedro y Marangani (6.67% cada uno). Estas diferencias podrían atribuirse a variaciones en el manejo sanitario y farmacológico del ganado lechero, así como a la ausencia de control sanitario señalada por Llanos (2002). La presencia de residuos por encima de los límites permitidos representa un riesgo para la salud pública. Por ello, es necesario fortalecer el control, la regulación, la capacitación y el uso racional de antibióticos en la producción lechera de Canchis.

Nuestros hallazgos de ausencia de residuos de oxitetraciclina y clortetraciclina coinciden con lo reportado por Guerrero et al. (2009). Esto podría explicarse por el uso reducido de tetraciclinas en los hatos lecheros, el cumplimiento adecuado de los periodos de retiro tras los tratamientos veterinarios y un mejor control sanitario en la producción. Asimismo, la menor incidencia de enfermedades bacterianas que requieren este grupo de antibióticos y la vigilancia de residuos en leche podrían haber contribuido a no detectar estas sustancias en las muestras analizadas.

7.2 Concentraciones de los residuos de antibióticos en leche de vaca

La Tabla 2 muestra a la ciprofloxacina con mayor concentración promedio (28.07 $\mu\text{g/kg}$) y el valor máximo más elevado (47.13 $\mu\text{g/kg}$). No obstante, todas las concentraciones se mantuvieron por debajo del límite máximo de residuos (LMR = 100 $\mu\text{g/kg}$). La enrofloxacin con menores concentraciones promedio (14.69 $\mu\text{g/kg}$), igualmente dentro del LMR establecido. En cuanto a la penicilina G, se identificaron cinco muestras positivas, con un promedio de 3.21 $\mu\text{g/kg}$, aunque su valor máximo (4.23 $\mu\text{g/kg}$) en una muestra superó al LMR (4 $\mu\text{g/kg}$), lo que indica la necesidad de una mayor vigilancia. Además, los residuos de ciprofloxacina y enrofloxacin presentaron valores variables en cada mercado (Figura 10).

Tabla 2

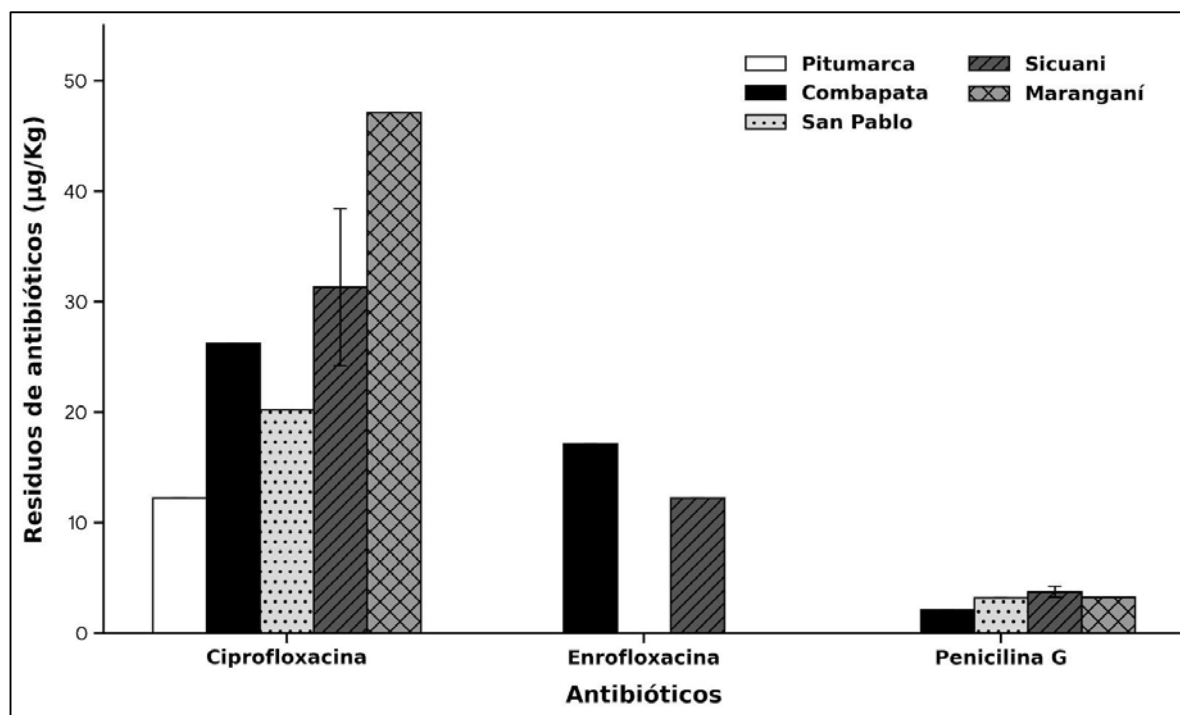
Comparación de las concentraciones de los residuos de antibióticos en la leche cruda de vaca expendida en los mercados de la provincia de Canchis

Residuos de antibióticos	Número de positivos	Promedio ($\mu\text{g/kg}$)	Error estándar ($\mu\text{g/kg}$)	Mínimo ($\mu\text{g/kg}$)	Máximo ($\mu\text{g/kg}$)	LMR* ($\mu\text{g/kg}$)
Ciprofloxacina	6	28.07 ^a	5.17	12.24	47.13	100
Enrofloxacin	2	14.69 ^{ab}	2.45	12.24	17.13	100
Penicilina G	5	3.21 ^b	0.33	2.12	4.23	4

* LMR: límites máximos de residuos de antibióticos, según la NTS (2016).

Figura 10.

Concentraciones de residuos de antibióticos en muestras de leche de vaca expendida en los mercados de la provincia de Canchis



La concentración promedio de ciprofloxacina encontrada en el presente estudio (28.07 $\mu\text{g/kg}$) difiere de lo reportado por Leite y Freitas (2025), quienes describieron valores de límite de decisión ($CC\alpha$) de 107 $\mu\text{g/kg}$. Esta diferencia podría deberse a distintas prácticas ganaderas, como el uso excesivo de antibióticos, su empleo como promotores de crecimiento y el incumplimiento del periodo de retiro. En contraste, Rame et al. (2025) identificaron factores de riesgo asociados a la superación del LMR para ciprofloxacina mediante regresión logística (OR), relacionados con el uso frecuente e inadecuado de antibióticos, la ausencia de programas de vigilancia y control y el incumplimiento de los periodos de retiro. Aunque nuestros resultados evidencian niveles bajos que no representan incumplimiento del LMR, estas diferencias indican posibles deficiencias en la vigilancia, la prescripción responsable y el manejo terapéutico. Asimismo, Odeny et al. (2024) señalan como factores asociados el uso excesivo, la dosificación incorrecta, el ordeño de vacas bajo tratamiento y la falta de

supervisión veterinaria. En conjunto, estos hallazgos sugieren que la presencia de ciprofloxacina en leche está relacionada con fallas en el control del tratamiento antimicrobiano y en la fiscalización de los sistemas de producción lechera.

La concentración promedio de enrofloxacin obtenida en el presente estudio (14.69 $\mu\text{g/kg}$), con valores máximos de 17.13 $\mu\text{g/kg}$, también difiere de los reportados por Leite y Freitas (2025), quienes observaron límites de decisión ($\text{CC}\alpha$) de 107.7 $\mu\text{g/kg}$. Esta diferencia podría asociarse a distintas prácticas terapéuticas, como el uso excesivo de antibióticos, su empleo como promotores de crecimiento y el incumplimiento de los tiempos de retiro. Asimismo, Rame et al. (2025) reportaron muestras que superaban los LMR, reflejando un escenario más crítico que el observado en nuestro estudio, probablemente relacionado con el uso frecuente e inadecuado de antibióticos, la ausencia de vigilancia y control y el incumplimiento de los periodos de retiro. De manera similar, Rinky et al. (2025) detectaron residuos de enrofloxacin de 116.38 $\mu\text{g/kg}$ en leche de Bangladesh, con una proporción importante por encima de los LMR, situación que puede relacionarse con el incumplimiento del periodo de retiro y el uso de antibióticos como promotores de crecimiento. Estas diferencias evidencian la influencia de las prácticas de uso de antimicrobianos y del control sanitario en la presencia de residuos.

La concentración promedio de penicilina encontrada en el presente estudio (3.21 $\mu\text{g/kg}$) fue considerablemente inferior a los valores reportados por Meklati et al. (2022), quienes detectaron concentraciones máximas de penicilina G de hasta 2062 $\mu\text{g/kg}$, evidenciando una contaminación más severa por β -lactámicos. Esta diferencia podría relacionarse con dosificaciones inadecuadas, tratamientos preventivos, falta de control y el incumplimiento del periodo de retiro señalados por dichos autores. Leite y Freitas (2025) también registraron límites de decisión de 4.9 $\mu\text{g/kg}$, superiores a la concentración hallada en este estudio, lo que podría explicarse por diferencias en la frecuencia de tratamiento de

mastitis, el acceso a medicamentos y el uso excesivo de antibióticos o el incumplimiento del periodo de retiro. La mayor presencia de trazas de penicilina G en muestras de leche de Kiambu en comparación con Nyandarua, reportada por Odeny et al. (2024), sugiere que la distribución de residuos no es homogénea y puede estar influenciada por la dosificación incorrecta, el ordeño de vacas bajo tratamiento y la falta de supervisión veterinaria. En este sentido, la menor concentración de residuos de penicilina G en la leche expendida en Canchis podría asociarse a un uso menos intensivo de β -lactámicos o a mejores prácticas de retiro y control sanitario.

En el presente estudio no se detectaron concentraciones de oxitetraciclina ni de clortetraciclina, lo que coincide con Guerrero et al. (2009), quienes también reportaron ausencia de tetraciclinas en leche cruda y sugirieron fortalecer la legislación, regulación y capacitación sobre el uso de antibióticos en la producción lechera. Este hallazgo contrasta con Odeny et al. (2024) y Rinky et al. (2025), quienes registraron presencia de oxitetraciclina y clortetraciclina, con concentraciones máximas de 315.10 $\mu\text{g/kg}$ y 188.91 $\mu\text{g/kg}$, respectivamente, superiores a los LMR, lo que evidencia mayor exposición a tetraciclinas y posibles incumplimientos de los periodos de retiro. Desde una perspectiva epidemiológica, estas diferencias pueden explicarse por variaciones en la carga de enfermedades bacterianas, la disponibilidad y preferencia por determinados antibióticos, así como por la dosificación inadecuada, tratamientos preventivos y deficiencias en el control y vigilancia descritas por Meklati et al. (2022). Asimismo, Leite y Freitas (2025) demostraron que los métodos analíticos sensibles permiten detectar concentraciones muy bajas de tetraciclinas, contribuyendo a una mayor precisión en el monitoreo de residuos.

VIII. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

8.1 Conclusiones

- ✓ La leche cruda de vaca expendida en los mercados de la provincia de Canchis presentó condiciones de inocuidad, ya que no se detectó residuos de oxitetraciclina ni de clortetraciclina. Sin embargo, se identificaron trazas de ciprofloxacina (5 %), penicilina G (4,17 %) y enrofloxacina (1,67 %), aunque en bajas frecuencias. Asimismo, la leche comercializada en los mercados y puntos de venta de los distritos de Checacupe y Tinta no presentó residuos de ninguno de los antibióticos evaluados.
- ✓ Las concentraciones de residuos (en promedio) de ciprofloxacina (28.07 µg/kg), enrofloxacina (14.69 µg/kg) y penicilina G (03.21 µg/kg) fueron bajas, por lo que consideramos aceptables para consumo humano (trazas). Los valores máximos de ciprofloxacina (47.13 µg/kg) y de enrofloxacina (17.13 µg/kg) no superaron el límite máximo de residuos (100 µg/kg). Sin embargo, en una muestra de leche, el residuo de penicilina G (4.23 µg/kg) superó ligeramente el límite máximo permitido de 4 µg/kg según la normativa sanitaria vigente.

8.2 Recomendaciones

- Se recomienda fortalecer los programas de capacitación dirigidos a los productores de leche sobre el uso correcto de antibióticos y el cumplimiento estricto de los periodos de retiro.
- Implementar un sistema de monitoreo periódico en los mercados locales mediante metodologías estándar como LC-MS/MS. La vigilancia continua facilitará la detección de trazas y reforzará el control sanitario en la cadena láctea.
- Se recomienda implementar buenas prácticas ganaderas y aplicar protocolos veterinarios estandarizados en las unidades productivas para garantizar la inocuidad de la leche fresca.

IX. REFERENCIAS

- Adams. (2003). *Farmacología y Terapéutica Veterinaria* (2° edición). Editorial Acribia. España.
- Alenezi, M. S., Tartor, Y. H., El-Sherbini, M., Pet, E., Ahmadi, M., & Abdelkhalek, A. (2024). Antibiotic Residues in Milk and Milk-Based Products Served in Kuwait Hospitals: Multi-Hazard Risk Assessment. *Antibiotics*, 13(11), 1073. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13111073>
- Anika, T. T., Al Noman, Z., Ferdous, Most. R. A., Khan, S. H., Mukta, M. A., Islam, Md. S., Hossain, Md. T., & Rafiq, K. (2019). Time dependent screening of antibiotic residues in milk of antibiotics treated cows. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 6(4), 516-520. <https://doi.org/10.5455/javar.2019.f376>
- Arsène, M. M. J., Davares, A. K. L., Viktorovna, P. I., Andreevna, S. L., Sarra, S., Khelifi, I., & Sergueïevna, D. M. (2022). El problema de salud pública de los residuos de antibióticos en alimentos y piensos: causas, consecuencias y posibles soluciones. *Veterinary World*, 15, 662–671. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.662-671>
- Brown, K., Mugoh, M., Call, D. R., & Omulo, S. (2020). Antibiotic residues and antibiotic-resistant bacteria detected in milk marketed for human consumption in Kibera, Nairobi. *PloS one*, 15(5), e0233413. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233413>
- Caneschi, A., Bardhi, A., Barbarroja, A. y Zaghini, A. (2023) El uso de antibióticos y la resistencia antimicrobiana en medicina veterinaria, un fenómeno complejo: una revisión narrativa. *Revisiones Destacadas en Farmacocinética y Farmacodinamia de Antibióticos* <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030487>
- Codex, Alimentarius. (2024). *Normas conexas. Codex Alimentarius FAO-WHO*. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/committees/committee-detail/related-standards/es/?committee=CCMMP>

- Choque, D., Obregon, M., Ligarda, C., Ramos, B., Sichez, J., & Solano, A. (2020). Residuos β -lactámicos y tetraciclinas en la leche fresca adquirida por Comités de Vaso de Leche de los distritos de San Jerónimo y Andahuaylas, Apurímac, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(3). <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18432>
- De la Flor, E. del P. (2024). *Evaluación de la presencia de residuos de antibióticos en leche cruda acopiada y del plan de control en la región Cajamarca*. Universidad Nacional de Cajamarca. <http://repositorio.unc.edu.pe/handle/20.500.14074/6906>
- FAO, FIDA, OMS, PMA, & UNICEF. (2017). El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2017: Fomentando la resiliencia en aras de la paz y la seguridad alimentaria. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. <https://openknowledge.fao.org/home>
- Gaugain-Juhel, M., Delépine, B., Gautier, S., Fourmond, M. P., Gaudin, V., Hurtaud-Pessel, D., Verdon, E., & Sanders, P. (2009). Validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry screening method to monitor 58 antibiotics in milk: A qualitative approach. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 26(11), 1459-1471. <https://doi.org/10.1080/02652030903150575>
- Gelb, M. H., Basheeruddin, K., Burlina, A., Chen, H.-J., Chien, Y.-H., Dizikes, G., Dorley, C., Giugliani, R., Hietala, A., Hong, X., Kao, S.-M., Khaledi, H., Klug, T., Kubaski, F., Liao, H.-C., Martin, M., Manning, A., Orsini, J., Peng, Y., ... Matern, D. (2022). Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry in Newborn Screening Laboratories. *International Journal of Neonatal Screening*, 8(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/ijns8040062>
- Google Earth. (2025). Google Earth. Recuperado 27 de noviembre de 2025, de <https://www.google.com/intl/es/earth/>

- Guerrero, G., Motta, G., Gamarra, G. R., Benavides, E. R., Roque, M. A., & Salazar., M. E. (2009). Detección de residuos de antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas en leche cruda comercializada en el Callao. *Ciencia e Investigación*, 12(2), 79-82. <https://doi.org/10.15381/ci.v12i2.3401>
- Hennart, S. L. A., & Faragher, J. (2012). *Validation of the Delvotest SP NT DA*. Journal of AOAC International, 95(1), 252–260. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.11-138>
- Huaman Lloclla, G. (2024). *Residuos de betalactámicos, sulfonamidas y tetraciclinas en leche de vaca que se expende en la provincia de Cusco*.
- Hurtado, N., Chirinos, D., Flores, Y., Ochoa, D., Huicho, L., & Rivera-Chira, M. (2022). Validación de un método multiresiduos en UHPLC- MS/MS para la determinación de diez residuos de antibióticos veterinarios en *Oncorhynchus mykiss*. *Revista de Innovación y Transferencia Productiva*, 3(1). <https://doi.org/10.54353/ritp.v3i1.e003>
- Jank, L., Martins, M. T., Arsand, J. B., Motta, T. M. C., Feijó, T. C., dos Santos Castilhos, T., Hoff, R. B., Barreto, F., & Pizzolato, T. M. (2017). Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Multiclass Method for 46 Antibiotics Residues in Milk and Meat: Development and Validation. *Food Analytical Methods*, 10(7), 2152-2164. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0755-4>
- Leite, M., & Freitas, A. (2025). Antibiotics in milk: Validation of analytical methodologies for ensuring food safety. *International Dairy Journal*, 169, 106308. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2025.106308>
- Llanos, G. A. (2002). Determinación de residuos de antibióticos en la leche fresca que consume la población de Cajamarca. *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 35-43.
- Meklati, F. R., Panara, A., Hadeif, A., Meribai, A., Ben-Mahdi, M. H., Dasenaki, M. E., & Thomaidis, N. S. (2022). Comparative Assessment of Antibiotic Residues Using Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) and a Rapid

- Screening Test in Raw Milk Collected from the North-Central Algerian Dairies. *Toxics*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/toxics10010019>
- Menkem, Z. E., Ngangom, B. L., Tamunjoh, S. S. A., & Boyom, F. F. (2019). Antibiotic residues in food animals: Public health concern. *Acta Ecologica Sinica*, 39(5), <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2018.10.004>
- MIDAGRI (2024). Promueve mayor consumo de leche para elevar calidad de la alimentación de población. <https://www.gob.pe/institucion/midagri/noticias/613411-midagri-promueve-mayor-consumo-de-leche-para-elevar-calidad-de-la-alimentacion-de-poblacion>
- MIDAGRI (2026). Producción peruana de leche fresca alcanza las 2.2 millones de toneladas al año. Agraria.pe. <https://agraria.pe/noticias/produccion-peruana-de-leche-fresca-alcanza-las-2-2-millones--42377>
- Muluyie Mesfin, Y., Agmas Mitiku, B., & Tamrat Admasu, H. (2024). Residuos de medicamentos veterinarios en productos alimenticios de origen animal y sus consecuencias para la salud pública: <https://doi.org/10.1002/vms3.70049>
- Norma Técnica Sanitaria. (2016). NTS N° 120-MINSA/DIGESA-V.01. Norma Sanitaria que establece los Límites Máximos de Residuos (LMR) de medicamentos veterinarios en alimentos de consumo humano. <http://faolex.fao.org/docs/pdf/per158799anx.pdf>
- Odeny, BA, Asudi, GO, Omwenga, G., Oduor, RO, Karau, GM (2024). Analysis of Antibiotics in Milk from Smallholder Farmers from Kenya Shows Traces Above the Recommended Maximum Residue Limits. *International Journal of Food Science and Biotechnology*, 9 (2), 27-39. <https://doi.org/10.11648/j.ijfsb.20240902.12>
- Qamar, M. U., Aatika, M. I., Chughtai, et al. (2023). Antibiotic-resistant bacteria, antimicrobial resistance genes, and antibiotic residue in food from animal sources: One Health food safety concern. *Microorganisms*, 11(1), 161.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms110101>

- Rame H, E. E., Sharma, M., Khanal, B. K. S., Sly, P. D., Mikkelsen, D., Clark, N., & Soares Magalhães, R. J. (2025). The Prevalence and Risk Factors Associated with the Presence of Antibiotic Residues in Milk from Peri-Urban Dairy Cattle Farms in Kathmandu, Nepal. *Antibiotics*, 14(1), 98. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14010098>
- Rengifo, J. M. (2014). Determinación de residuos de antibióticos y carga microbiana de la leche cruda, que se expende en la ciudad de Iquitos, 2013. *Universidad Nacional de la Amazonía Peruana*. <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/4682>
- Rinky, F., Rahman, A., Reza, S., Nowar, A., & Alim, S. R. (2025). Residual antibiotics in milk samples: Assessing the risk and prevalence in Bangladesh. *Heliyon*, 11(1). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e41422>
- Rossi, R., Saluti, G., Moretti, S., Diamanti, I., Giusepponi, D., & Galarini, R. (2018). Multiclass methods for the analysis of antibiotic residues in milk by liquid chromatography coupled to mass spectrometry: A review. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 35(2), 241-257. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1393107>
- Sachi, S., Ferdous, J., Sikder, M. H., & Azizul Karim Hussani, S. M. (2019). Antibiotic residues in milk: Past, present, and future. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 6(3), 315-332. <https://doi.org/10.5455/javar.2019.f350>
- Tasci, F., Canbay, H. S., & Doganturk, M. (2021). Determination of antibiotics and their metabolites in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. *Food Control*, 127, 108147. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108147>
- Tomanić, D., Kladar, N., & Kovačević, Z. (2025). Antibiotic Residues in Milk as a Consequence of Mastitis Treatment: Balancing Animal Welfare and One Health Risks. *Veterinary Sciences*, 12(12), 1159. <https://doi.org/10.3390/vetsci12121159>

- Trombete, F. M., Santos, R. R. dos, & Souza, A. L. R. (2014). Antibiotic residues in Brazilian milk: A review of studies published in recent years. *Revista chilena de nutrición*, 41(2), 191-197. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182014000200010>
- Tumini, M., Nagel, O. G., & Althaus, R. L. (2019). Five-assay microbiological system for the screening of antibiotic residues. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(4), 345-353. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.01.002>
- Vercelli, C., Amadori, M., Gambino, G., & Re, G. (2023). A review on the most frequently used methods to detect antibiotic residues in bovine raw milk. *International Dairy Journal*, 144, 105695. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105695>
- Villar, F. A., Estremadoyro, L. G., Payano, I. U., Sanchez, N. M., Laurente, K. A., Maurico-Ramos, Y., & Carhuas, J. N. (2025). Eficacia de SNAP DUO ST Plus y HPLC en la detección de residuos de antibióticos en leche cruda del Valle del Mantaro, Perú. *Revista Veterinaria*, 36(1), 1-7. <https://doi.org/10.30972/vet.3617987>.
- Virto, M., Santamarina-García, G., Amores, G., & Hernández, I. (2022). Antibiotics in Dairy Production: Where Is the Problem? *Dairy*, 3(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/dairy3030039>
- Zambrano, P. E. L. R., Espinoza, J. A., Conte-Junior, C. A., & Torre, C. A. L. de la. (2018). Determinación de residuos de antibióticos veterinarios en productos de origen animal mediante cromatografía líquida. *Vigilância Sanitária em Debate*, 6(2), 122-136. <https://doi.org/10.22239/2317-269X.00970>
- Zhao, C., Wang, Y., Mulchandani, R., & Van Boeckel, T. P. (2024). Global surveillance of antimicrobial resistance in food animals using priority drugs maps. *Nature Communications*, 15(1), 763. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45111-7>

X. ANEXOS

ANEXO 1: pruebas estadísticas

Figura 1.1 Concentraciones de residuos de antibiótico obtenidos mediante LCMS/MS

```
> Tesis <- read.table("clipboard", header=TRUE, stringsAsFactors=TRUE, sep="\t", na.strings="NA", dec=".",
+ strip.white=TRUE)
> Tesis
  Antibióticos Distritos Concentración
1 Ciprofloxacina Pitumarca      12.24
2 Ciprofloxacina Combapata      26.23
3 Ciprofloxacina San Pablo      20.22
4 Ciprofloxacina Sicuani        24.22
5 Ciprofloxacina Sicuani        38.40
6 Ciprofloxacina Marangani      47.13
7 Enrofloxacina Combapata      17.13
8 Enrofloxacina Sicuani        12.24
9 Penicilina G Combapata        2.12
10 Penicilina G San Pablo        3.21
11 Penicilina G Sicuani          3.23
12 Penicilina G Sicuani          4.23
13 Penicilina G Marangani        3.25
```

Figura 1.2 Prueba de normalidad de datos: concentración de residuos de antibióticos.

```
> normalityTest(~Concentración, test="lillie.test", data=Tesis)

      Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

data:  Concentración
D = 0.18563, p-value = 0.2544
```

Figura 1.3 Análisis de varianza: concentración de residuos de antibióticos.

```
> AnovaModel.1 <- aov(Concentración ~ Antibióticos, data=Tesis)
> summary(AnovaModel.1)
              Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Antibióticos    2 1693.6   846.8    10.39 0.00361 **
Residuals     10   814.6    81.5
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Figura 1.4: Prueba de comparación múltiple Tukey: promedios con intervalos de confianza.

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses				
Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts				
Fit: aov(formula = Concentración ~ Antibióticos, data = Tesis)				
Linear Hypotheses:				
	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
Enrofloxacin - Ciprofloxacin == 0	-13.388	7.369	-1.817	0.21075
Penicilina G - Ciprofloxacin == 0	-24.865	5.465	-4.550	0.00245 **
Penicilina G - Enrofloxacin == 0	-11.477	7.551	-1.520	0.31945

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1				
(Adjusted p values reported -- single-step method)				

Simultaneous Confidence Intervals				
Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts				
Fit: aov(formula = Concentración ~ Antibióticos, data = Tesis)				
Quantile = 2.7278				
95% family-wise confidence level				
Linear Hypotheses:				
	Estimate	lwr	upr	
Enrofloxacin - Ciprofloxacin == 0	-13.3883	-33.4905	6.7138	
Penicilina G - Ciprofloxacin == 0	-24.8653	-39.7735	-9.9572	
Penicilina G - Enrofloxacin == 0	-11.4770	-32.0756	9.1216	
Ciprofloxacin	Enrofloxacin	Penicilina G		
"a"	"ab"	"b"		

ANEXO 2: Normas sanitarias que establecen los límites máximos de residuos

Tabla 2.1

Límites máximos de residuos (LMR) de antibióticos en leche según las entidades reguladoras.

ANTIBIÓTICOS	DIGESA/MINSA	CODEX	UNIÓN EUROPEA (UE)
Penicilina G	4 µg/kg	4 µg/kg	4 µg/kg
Enrofloxacin	100 µg/kg	100 µg/kg	100 µg/kg
Ciprofloxacina	100 µg/kg	100 µg/kg	100 µg/kg
Oxitetraciclina	100 µg/kg	100 µg/kg	100 µg/kg
Clortetraciclina	100 µg/kg	100 µg/kg	100 µg/kg

ANEXO 3: Cromatografía LC - MS/MS en muestras de leche

Tabla 3.1

Preparación de soluciones estándar por etapas de dilución para la curva de calibración de antibióticos

Etapas de dilución	Antibiótico o mezcla	Volumen estándar (µL)	Volumen disolvente (µL)	Disolvente utilizado	Concentración final
Solución madre a 1 ppm	penicilina G	10			
	enrofloxacin	10	970	Solución 5	10 ppm
	ciprofloxacina	10			
	oxitetraciclina	10	990	Metanol	10 ppm
	clortetraciclina	10	990	Metanol	10 ppm
10 ppm a 1 ppm	Mix A	100	900	Solución 5	1 ppm
	oxitetraciclina	100	900	Metanol	1 ppm
1 ppm a 500 ppb 500 a 50 ppb	clortetraciclina	100	900	Metanol	1 ppm
	Mix B	500	500	Solución 5	500 ppb
	Mix C	100	900	Solución 5	50 ppb

Adaptado de (Merk, 2023). Nota. Las mezclas multicomponente (Mix A, B y C) se emplearon para construir curvas de calibración en niveles bajos de concentración, aplicables en análisis por LCMS/MS. Mix A (penicilina G, enrofloxacin, ciprofloxacin) mix B (penicilina G, enrofloxacin, ciprofloxacin). mix C (penicilina G, enrofloxacin, ciprofloxacin). solución 5 (acetonitrilo + agua).

Tabla 3.2

Preparación de los puntos de la curva de calibración para penicilina G, enrofloxacin y ciprofloxacin

Concentración final	Mix estándar utilizado	Vol. estándar (µL)	Vol. de matriz blanca (µL)	Vol. de agua ultrapura (µL)	Vol total (µL)
10 ppb	Mix C (50 ppb)	16	500	284	800
25 ppb	Mix B (500 ppb)	4	500	296	800
50 ppb	Mix B (500 ppb)	8	500	292	800
100 ppb	Mix B (500 ppb)	16	500	284	800
150 ppb	Mix B (500 ppb)	24	500	276	800

Adaptado de (Merck, 2023).

Figura 3.1 Muestras positivas de leche en Combapata y Sicuani: enrofloxacin.

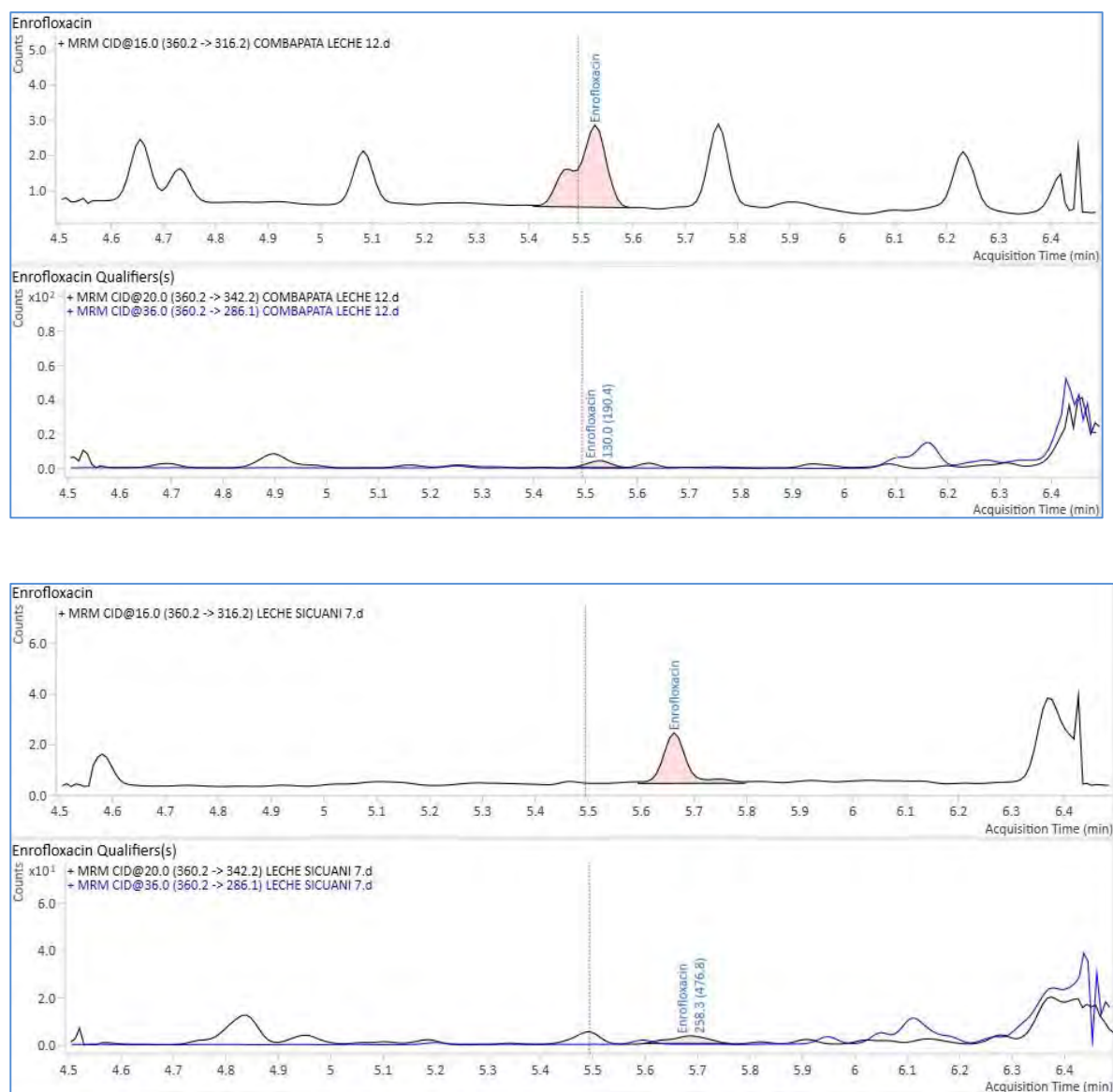
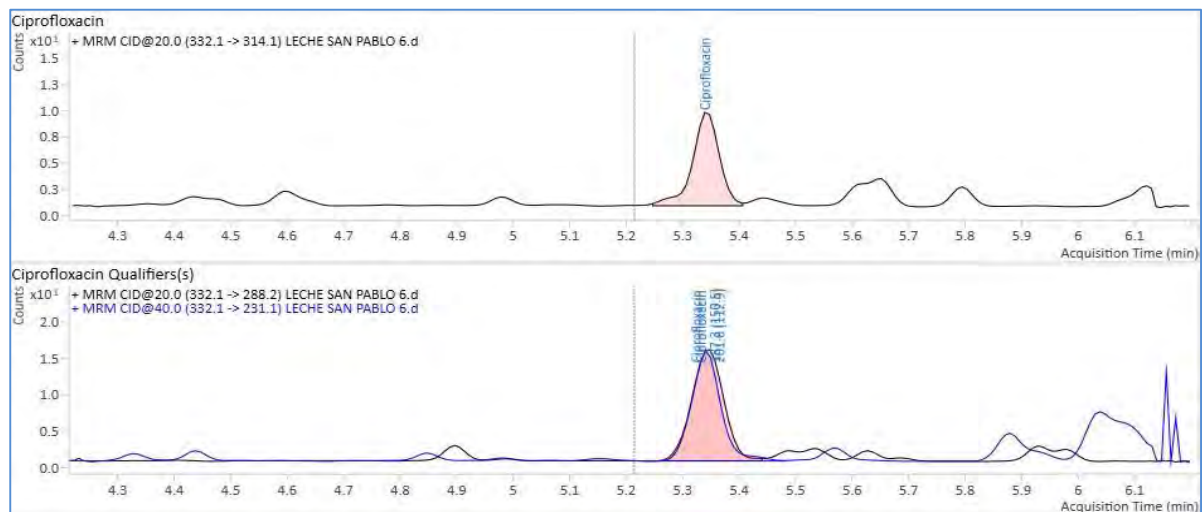
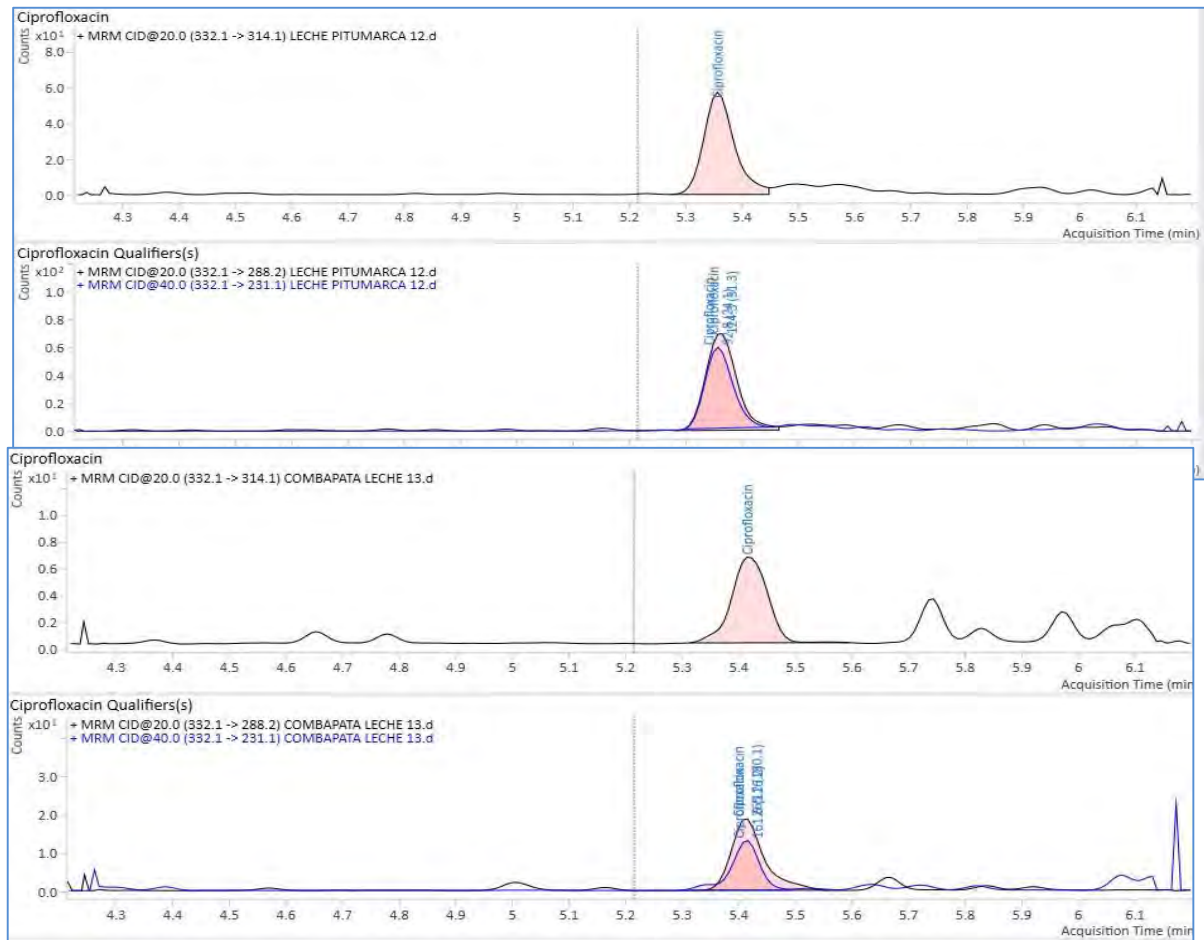
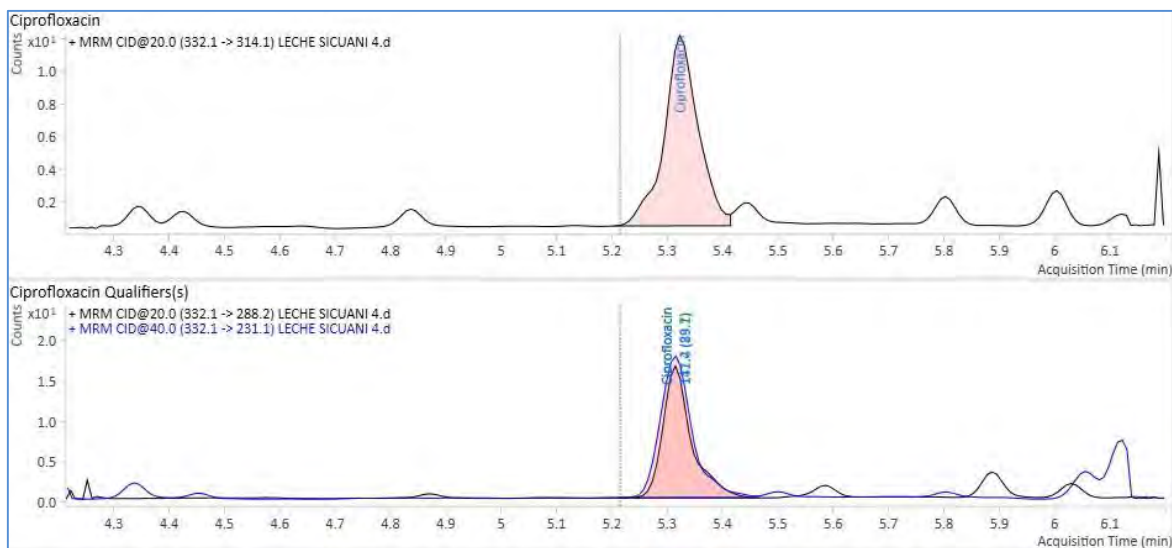
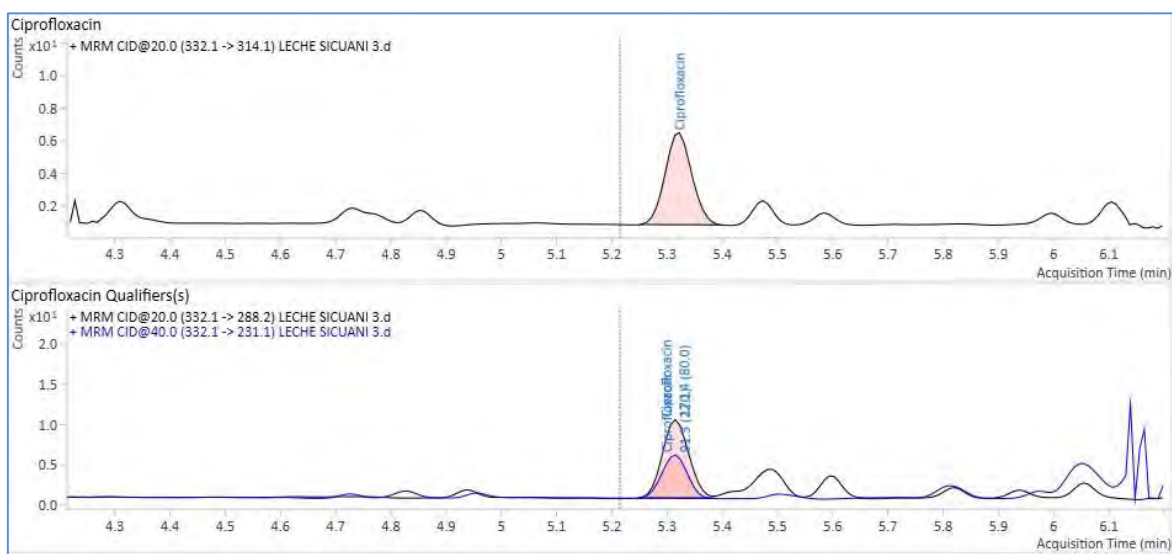
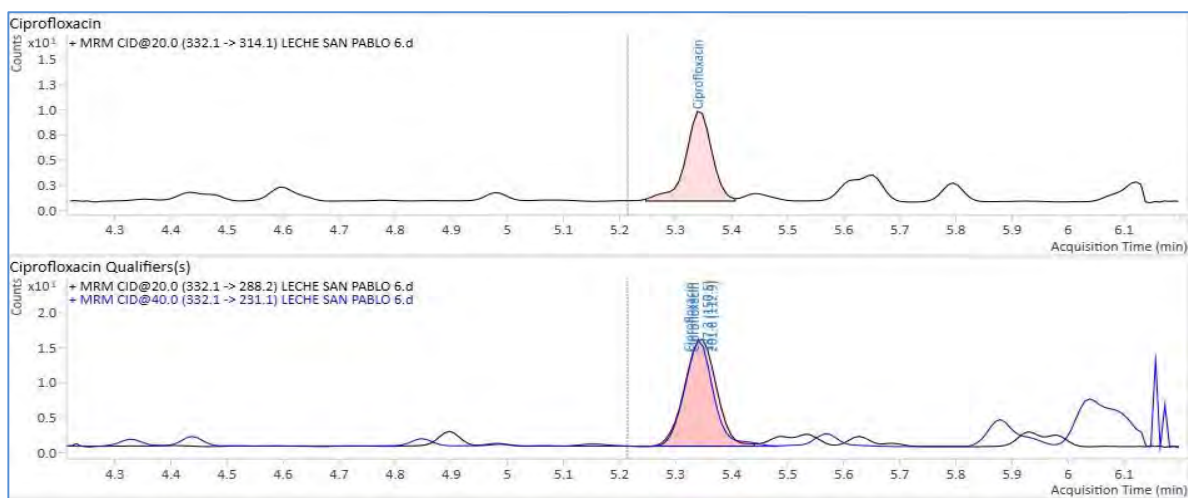


Figura 3.2 Muestras positivas de leche en Pitumarca, Combapata, San Pablo, Sicuani y

Marangani: ciprofloxacina





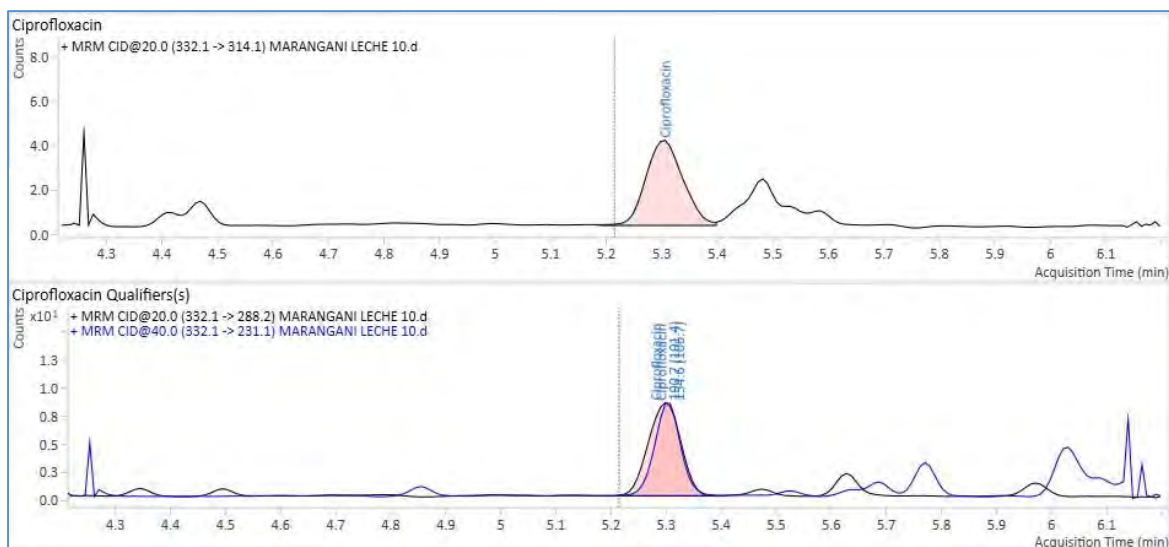
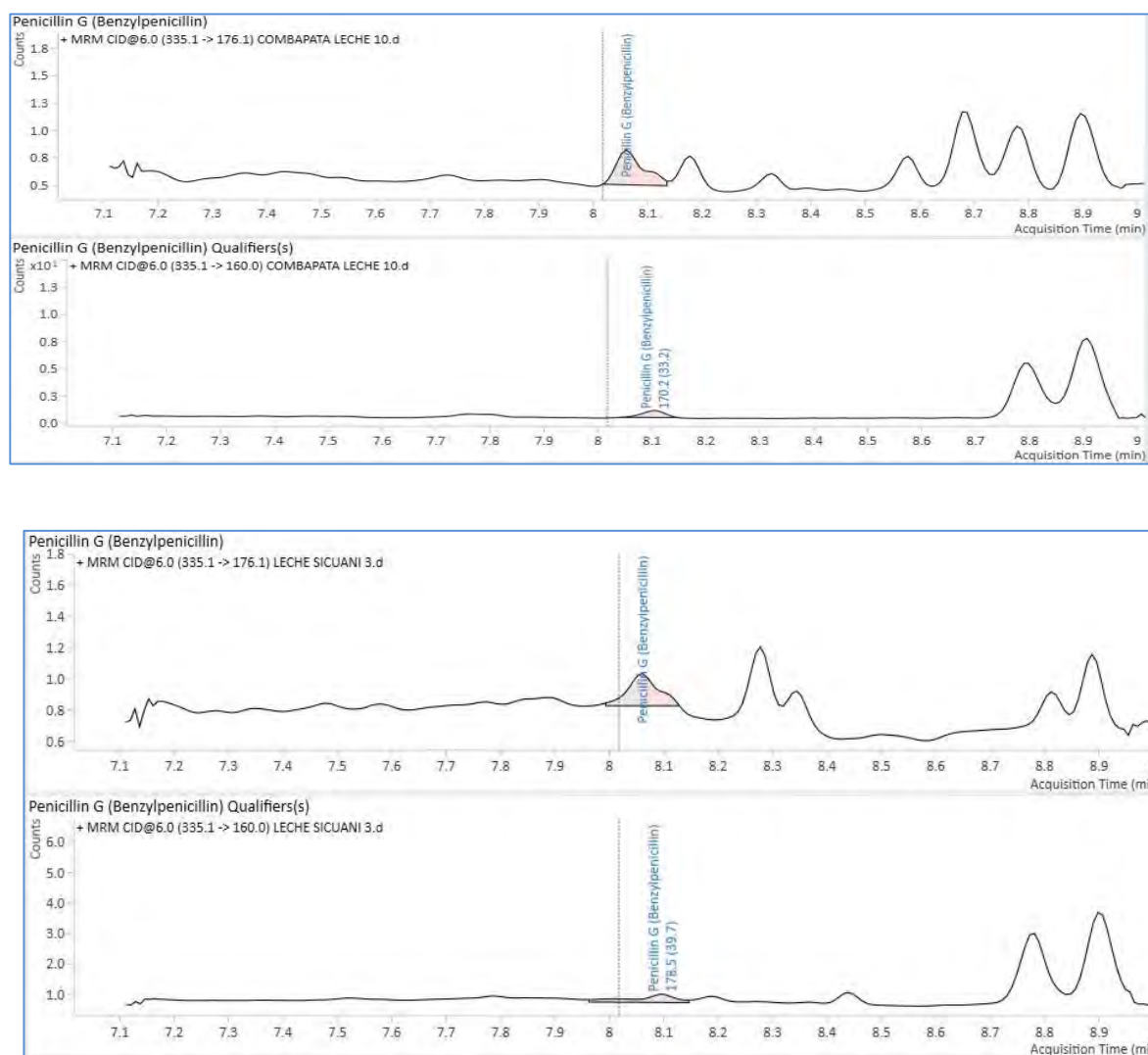
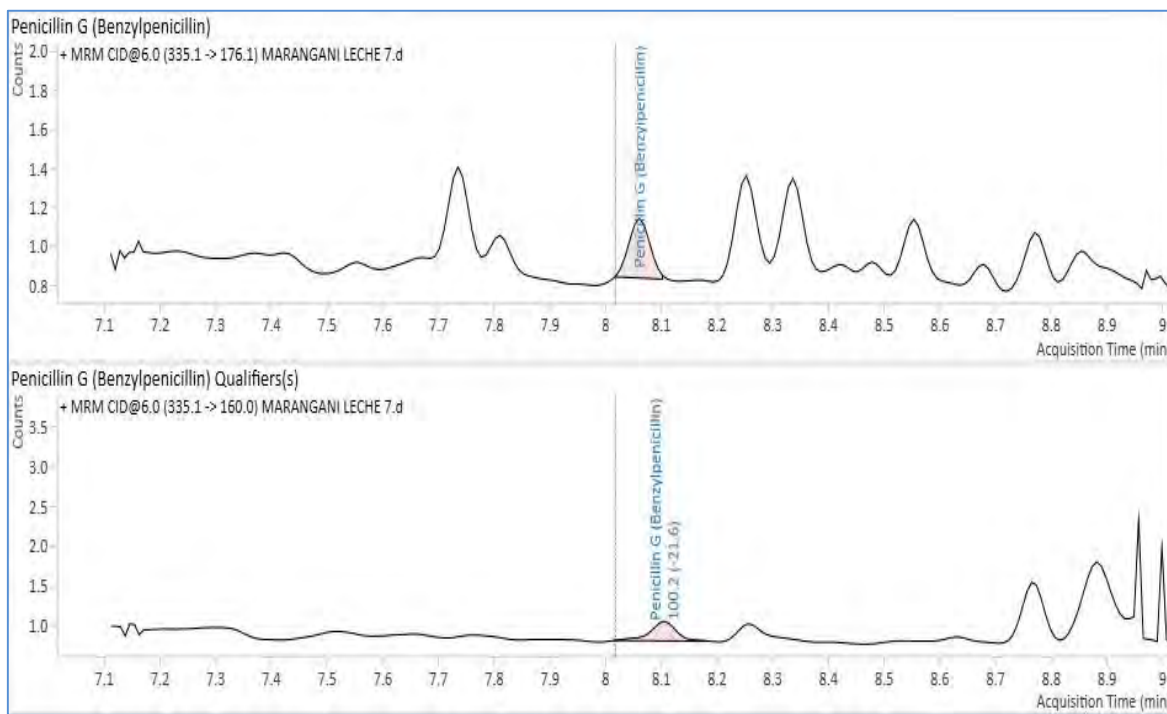
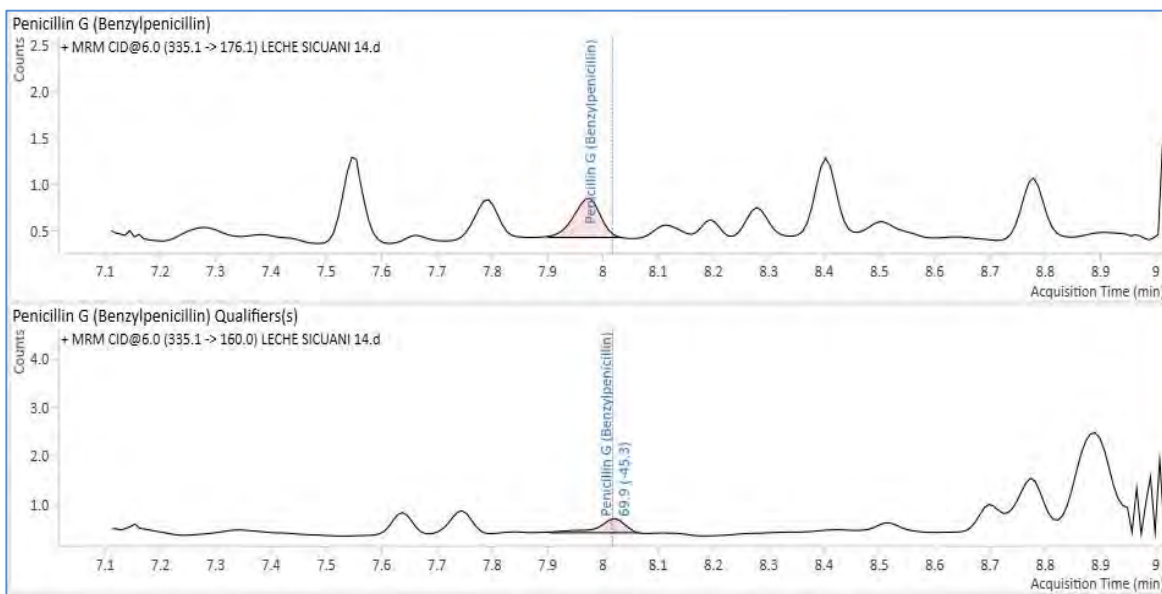


Figura 3.3

Muestras positivas de leche en Combapata, Sicuani y Marangani: penicilina G





ANEXO 4: Recolección de muestras de leche en la provincia de Canchis

Figura 4.1 Muestreo de leche en Plaza de armas de Pitumarca.



Figura 4.3 Recolección de leche en el paradero de Combapata.



Figura 4.2 Recolección de leche en la plaza de armas de Checacupe.



Figura 4.4 Recolección de leche en la plaza de armas de Tinta.



Figura 4.5 *Recolección de leche en el mercado la bombonera de Sicuani.*



Figura 4.7 *Recolección de leche en la plaza de armas de San Pablo.*



Figura 4.6 *Recolección de leche en el paradero de Marangani.*



Figura 4.8 *Recolección de leche en la plaza de armas de San Pedro.*



ANEXO 5: Procesamiento de muestras en el Laboratorio de Farmacología de la escuela profesional de Medicina Veterinaria.

Figura 5.1 *Pesado de leche cruda 2g.*



Figura 5.2 *Adición de solución EDTA más cerámica de homogeneización.*



Figura 5.3 Homogeneizar por 2 minutos la muestra.



Figura 5.4 Adición de solución 2 (acetonitrilo helado 8 mL).

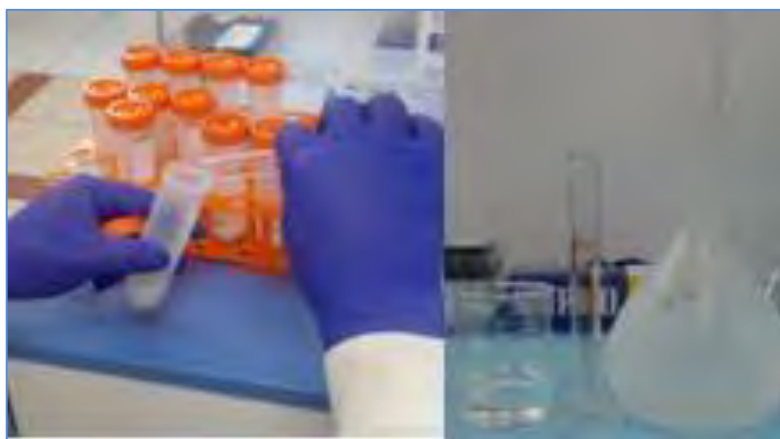


Figura 5.5 Homogenización de muestra por 5 minutos.



Figura 5.6 Centrifugación de muestra por 10 minutos.

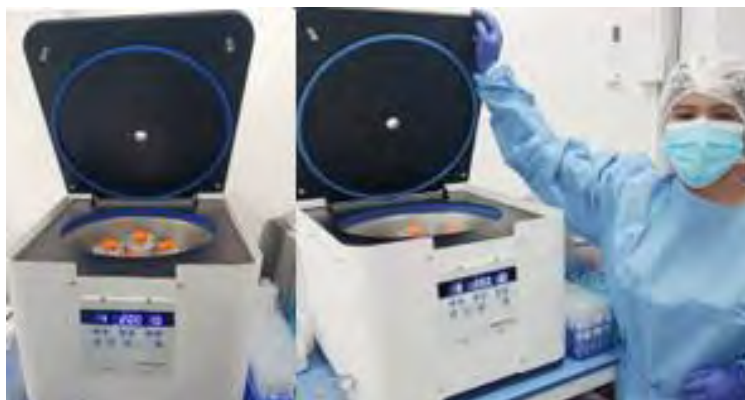


Figura 5.7 Extracción de la parte superficial de la muestra y adición de la solución 3(ACN/H₂O).



Figura 5.8 Filtración al vacío de la muestra procesada.



Figura 5.9 Muestras de leche analizada en laboratorio.



Figura 5.10 Procesamiento de muestras en el equipo de HPLC-MS/MS en el laboratorio de Farmacología Veterinaria - UNSAAC.

