

**UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE OXITETRACICLINA
EN CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*) CONGELADO
PROVENIENTE DE ECUADOR**

RUDY ARIEL MONTES MORATAYA

Médico Veterinario

GUATEMALA, ABRIL DE 2023

**UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE OXITETRACICLINA EN
CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*) CONGELADO PROVENIENTE
DE ECUADOR**

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

RUDY ARIEL MONTES MORATAYA

Al conferírsele el título profesional de

Médico Veterinario

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, ABRIL DE 2023

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	M.A. Rodolfo Chang Shum
SECRETARIO:	M.Sc. Lucrecia Emperatriz Motta Rodríguez
VOCAL I:	M.Sc. Juan José Prem González
VOCAL II:	Lic. Zoot. Miguel Ángel Rodenas Argueta
VOCAL III:	M.V. Edwin Rigoberto Herrera Villatoro
VOCAL IV:	Br. Cesar Francisco Monzón Castellanos
VOCAL V:	P. Agr. Jorge Pablo Rosales Roca

ASESORES

M.A. LUDWIG ESTUARDO FIGUEROA HERNANDEZ
M.A. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

“DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE OXITETRACICLINA EN CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*) CONGELADO PROVENIENTE DE ECUADOR”

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO A:

A DIOS:

Por ser el centro de mi vida, por ser mi fortaleza y mi guía durante este camino, donde hubo tropiezos y cada vez que sentía que esto no era para mí, el me mostraba el motivo por el cual me llevo a prepararme como médico veterinario.

A MI MADRE:

Miriam Morataya por cuidarme e instruirme, por demostrarme tu amor a través de tus acciones y ser una mujer trabajadora, valiente y esforzada, características que han sido ejemplo para que yo quisiera salir adelante.

A MI PADRE:

Rudy Montes quien siempre se preocupó para que yo fuera alguien en la vida y tuviera una carrera universitaria, que con sacrificios me apoyo para que pudiera concluir mis estudios.

A MI ABUELO:

Álvaro Montes, quien me enseñó a trabajar con un machete y un azadón, quien me mostró que la honestidad, la honradez y la puntualidad me abrirían muchas puertas y que a pesar de tener un título universitario debo mantener los pies en la tierra, la mirada al cielo y seguir siendo una persona humilde y compasiva con los demás.

A MIS HERMANOS

Ligia y Warner Montes Por estar siempre presentes, brindarme su apoyo en cada momento y mostrarme su amor de diferentes maneras.

A MI SOBRINO

Matthias Gutiérrez por llegar a mi vida a llenarme de energía, de alegría y esperanza, por ser uno de mis motivos para seguir adelante, te amo chaparro.

A MI CUÑADO

Darubin Gutiérrez, por llegar a la familia a complementarla y darnos tu apoyo en cada momento que se necesita.

A:

Todas aquellas personas que un día creyeron en mí, que en algún momento me confiaron a sus mascotas para vacunarlas y desparasitarlas, y que de una u otra forma me apoyaron durante todo este tiempo.

AGRADECIMIENTO

- A DIOS:** Toda gloria y honra a Él, por lo que ha hecho en mi vida, lo que está haciendo y lo que seguirá haciendo.
- A MIS PADRES:** Por darme la vida y el apoyo incondicional a lo largo de la carrera, por animarme a seguir adelante hasta terminar y ser mi ejemplo de trabajo y esfuerzo.
- A MIS ABUELOS:** Margarita, Felipe y Álvaro, por dejar en mí el gusto y amor hacia la naturaleza, el campo y los animales. Un beso y abrazo al cielo.
- A MAMA YOLI:** Por ser parte de mi vida desde niño, y mostrarme que el amor de los abuelos es un sello en el corazón que nunca se borra.
- A MIS AMIGOS** Con los que juntos caminamos esta aventura de la universidad, con los que compartí frustraciones, enojos, tristezas, pero sobre todo alegrías y carcajadas.
- LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA** Por brindarme las herramientas que me han formado como un profesional de la salud y bienestar animal.

A MIS ASESORES

Dr. Ludwig y Dr. Méndez por brindarme su apoyo, por la paciencia y ser parte de esta gran etapa de mi vida

**AL MINISTERIO
DE GANADERIA Y
AGRICULTURA-MAGA-**

Por abrirme las puertas y permitirme realizar el EPS en el Departamento de Productos de Origen Animal e Hidrobiológicos y a la vez realizar con su apoyo el tema de investigación de mi tesis.

A LOS DOCTORES

Dr. Denis Aldana y Dr. Donato Gonzales por brindarme de su conocimiento, apoyo y tiempo durante la investigación.

A LOS DOCTORES

Dr. German Ajualip y Dr. Julio Ruano por brindarme de su confianza, compartir su experiencia y conocimiento dándome la oportunidad de crecer como profesional.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	OBJETIVOS.....	3
	General	3
	Específicos.....	3
III.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
	Camaronicultura	4
	Resistencia Bacteriana.....	6
	Oxitetraciclina.....	8
	Método de ELISA	9
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
	Materiales.....	12
	Recursos humanos	12
	Recursos biológicos.....	12
	Recursos de campo	12
	Recursos de oficina	12
	Metodología	13
	Diseño del estudio	13
	Área de estudio.....	13
	Unidad de muestreo.....	13
	Población y muestra	13
	Procedimiento de muestreo	14
	Método de laboratorio	14
	Extracción de la muestra	15
	Procedimiento de prueba.....	15
	Análisis de datos.....	16
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
VI.	CONCLUSIONES.....	22
VII.	RECOMENDACIONES.....	23
VIII.	RESUMEN.....	24

SUMMARY	25
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	26
X. ANEXOS.....	29

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.....	5
Figura 2.....	6
Figura 3.....	7
Figura 4.....	8
Figura 5.....	9
Figura 6.....	10
Figura 7.....	10
Figura 8.....	11
Figura 9.....	11

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	17
Tabla 2	18
Tabla 3	18
Tabla 4	19
Tabla 5	19

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales productos hidrobiológicos de exportación que tiene Guatemala es el camarón (*Litopenaeus vannamei*), seguido de otros productos de la pesca como el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*), atún barrilete (*Katsuwonus pelamis*) y atún listado (*Thunnus obesus*). A pesar de que Guatemala cuenta con varias unidades de producción de camarón es necesario que grandes empresas deban importar dicho producto de otros países como Ecuador ya que este es el segundo país con mayor producción de camarón a nivel mundial. Este producto de importación tiene como fin ser procesado y empacado para luego ser exportado a otros países de Europa.

La acuicultura ha tenido un bajo desarrollo en algunos países debido a la falta de presupuesto. Esto los limita a contratar técnicos especializados que puedan asesorar a los productores con respecto al manejo, principalmente en el tratamiento enfermedades que afectan al camarón. Las principales patologías en los sistemas de producción de camarón aparecen por un mal manejo, un uso no controlado de alimento artificial, fertilizantes, mal empleo de antibióticos, pesticidas y la mala calidad del suelo (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]., 2020). En la actualidad, para el control de enfermedades infecciosas y no infecciosas se ha utilizado gran cantidad de antibióticos dentro de los sistemas de producción acuícola. El uso de dichos medicamentos ha sido algo común para promover el crecimiento de camarón, específicamente para estabilizar la microbiota bacteriana. Las tetraciclinas han sido muy utilizadas en medicina veterinaria ya que son antibióticos de amplio espectro. En la acuicultura se incluyen en la profilaxis, como quimioterapéuticos y también son indicados para el tratamiento contra varias bacterias que afectan al camarón como: *Vibrio harveyi* y *V. alginolyticus* (Santiago et al., 2009).

Uno de los principales problemas al utilizar antibióticos sin tener la asesoría correspondiente es la falta de inocuidad en el producto para consumo humano ya que esto puede llevar a la resistencia de las bacterias ante los antibióticos. Europa se preocupa por asegurar la protección al consumidor final, por lo cual existe una serie de requisitos para garantizar que los productos alimenticios importados de origen animal cumplan con lo establecido en la legislación para el control de contaminantes generados por el uso de medicamentos veterinarios, el agua y otros manejos que puedan afectar la inocuidad del producto (Figueroa, L. 2014).

La FAO, advierte sobre eliminar el uso de antibióticos en dichas producciones, ya que han mostrado gran preocupación en la detección de residuos de dichos medicamentos en camarones destinados al consumo humano, estos residuos se han encontrado en productos cultivados y como consecuencia ha mostrado una baja en las importaciones y pérdidas económicas al productor (Cámara Nacional de Acuicultura, 2017).

Esta investigación tiene como fin crear información sobre si existe la presencia de residuos de antibiótico como oxitetraciclina en el camarón (*Litopenaeus vannamei*) congelado importado de Ecuador.

II. OBJETIVOS

General

- Crear información sobre la presencia de residuos de oxitetraciclina en muestras de camarón (*Litopenaeus vannamei*) congelado destinado al consumo humano proveniente de Ecuador.

Específicos

- Determinar la presencia de residuos de oxitetraciclina en muestras de camarón (*Litopenaeus vannamei*) congelado destinado al consumo humano proveniente de Ecuador.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

Camaronicultura

Los productos de la pesca tanto de agua dulce como de agua salada son una fuente importante de alimento para varios países pues contribuye a la seguridad alimentaria, reducción de la pobreza y alcanzar el desarrollo sostenible. A pesar de que estos productos pueden ser abundantes en algunas regiones su consumo es muy escaso. Esto puede ser por las malas experiencias que las personas han tenido por enfermedades transmitidas al consumir dichos productos. Las malas prácticas de higiene, manejo en la producción y en planta procesadora contribuyen a que los productos puedan contaminarse dándole esta mala experiencia al consumidor. Las buenas prácticas acuícolas nos garantizan la inocuidad de los productos de la pesca y para garantizar estas prácticas hoy en día estos productos ya son producidos en granjas o fincas especializadas (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria [OIRSA], 2018).

El camarón se ha cultivado por varias décadas a nivel mundial. Esta actividad se concentra principalmente en Asia y América. La industria del camarón se enfrenta a diversos desafíos como las enfermedades víricas, bacterianas y la obtención de los ingredientes a utilizar para la alimentación. En los cultivos extensivos la prevención de las enfermedades juega un papel muy importante en el manejo ya que estas pueden ocasionar el fracaso de la producción. Dentro de las enfermedades bacterianas, la vibriosis es la más frecuente y se presenta tanto en la fase larvaria del camarón como en la de crecimiento. Esta enfermedad es causada por bacterias del género *Vibrio* y es considerada la principal causa de mortalidad en la etapa larvaria (Jory, 2018).

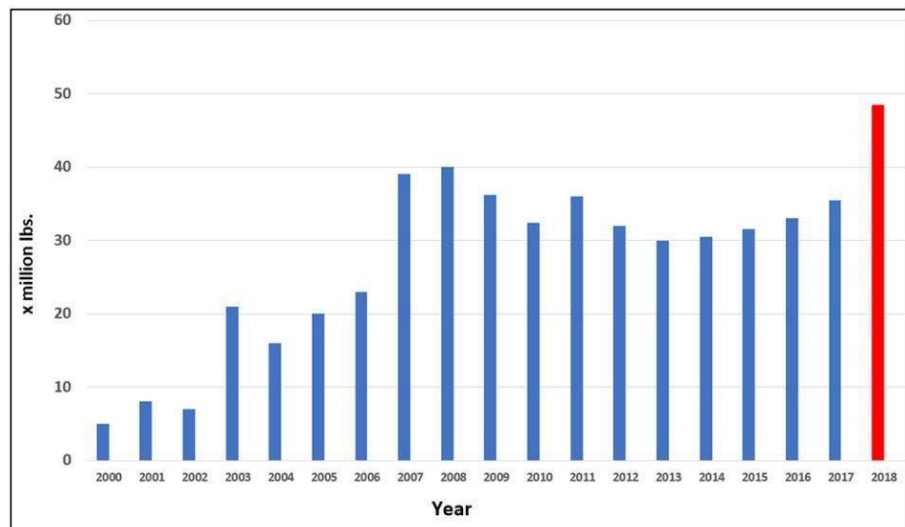
El sistema de producción extensivo se caracteriza por tener estanques grandes y una baja densidad de siembra. Aunque Guatemala no cuenta con las características necesarias para este tipo de sistemas por sus suelos arenosos, alto

costo de la tierra y escasos esteros este método de producción se ha utilizado por mucho tiempo razón por lo cual no se alcanzó un alto desarrollo como otros países(República Gt, 2020).

A finales de los 90 los productores guatemaltecos optaron por adoptar el método de producción súper intensivo. Este se caracteriza por tener estanques pequeños y profundos y producir en ciclos cortos. Con este tipo de sistema se tiene la capacidad de producir aproximadamente hasta 70/80 toneladas métricas por hectárea en cada ciclo. Se pudo observar una evolución en la producción a nivel nacional, Las claves de este sistema son: pozos con filtros naturales como arena. Semilla genéticamente mejorada y niveles de aireación correctas (De Beausset, 2018).

Figura 1

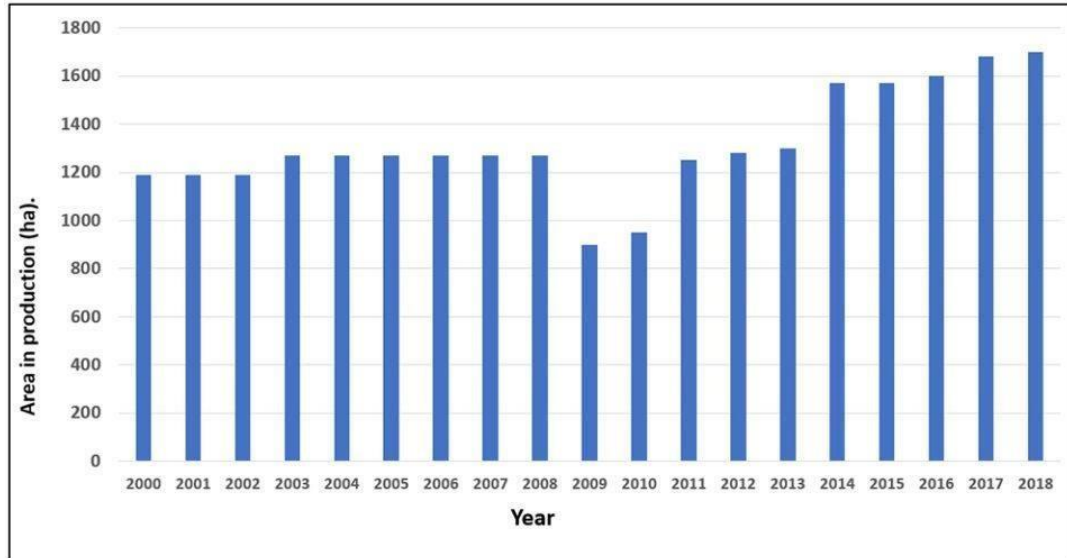
Evolución de la producción de camarón cultivado en Guatemala, 2000 a 2018. Los años de producción disminuida reflejan el impacto de varias enfermedades importantes del camarón.



(De Beausset, 2018)

Figura 2

Evolución del área de estanques de cultivo de camarón en Guatemala, 2000 a 201



(De Beausset, 2018)

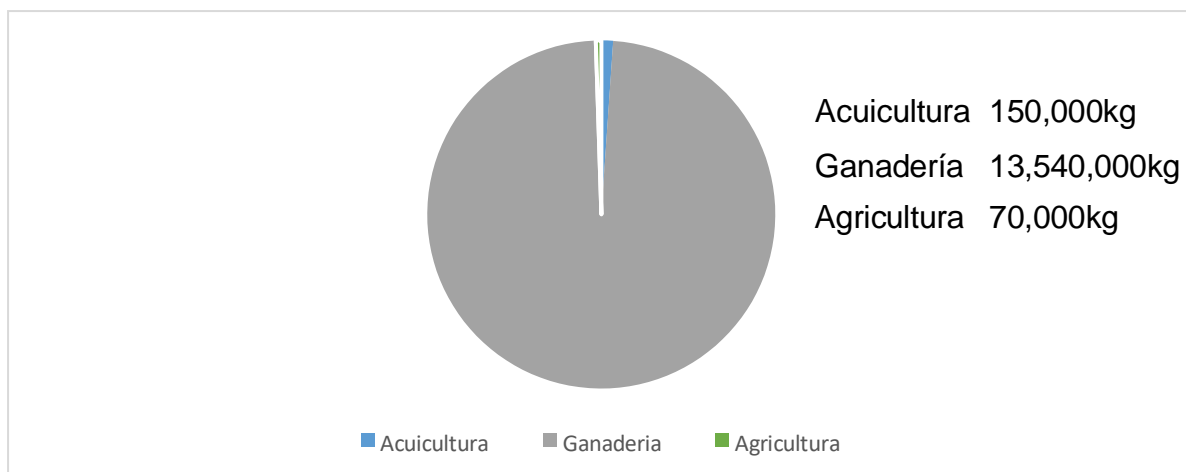
Resistencia Bacteriana

Las enfermedades transmitidas por los alimentos no son, hoy en día, la única preocupación en el tema de la inocuidad de los alimentos. La resistencia bacteriana está alertando a los encargados de la salud en cada país. Esta es producida cuando los microorganismos sufren cambios y hacen que los medicamentos para combatir alguna infección dejan de ser eficientes en el organismo. Estos organismos resistentes a la mayoría de los antibióticos son llamados ultrarresistentes. Esto es muy preocupante ya que cualquier infección causada por uno de estos organismos puede causar la muerte al no tener respuesta al tratamiento (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2017).

Es muy frecuente el uso de antibióticos en animales de producciones donde sus productos y subproductos son destinados para consumo humano. Algunos elementos como un buen manejo, higiene y bioseguridad son esenciales para la salud de los animales de producción y así tener alimento inocuo. Los antibióticos desempeñan un rol importante en el tratamiento, control y en ocasiones la

prevención de la propagación de alguna enfermedad (OMS, 2019). No obstante, los gobiernos de cada país han empezado a tomar medidas para regular y disminuir el uso de antibióticos en los animales de producción para garantizar alimento inocuo a la población. La inocuidad garantiza que un producto de consumo humano no causara daño al consumidor final (TOOLS, ISO, 2018). En general las áreas donde se utiliza antibióticos en gran cantidad son: la ganadería y acuicultura y en menor grado en la agricultura. Se ha reportado en los Estado Unidos que el 80% de los antibióticos que se consumen son encontrados en vegetales y productos de la pesca. En los últimos años el manejo de las enfermedades infecciosas se ha convertido en algo complejo ya que se han encontrado varios mecanismos de resistencia a los antibióticos por parte de los microorganismos(González et al. , 2019).

Figura 3
Consumo estimado de antibiótico en Estado Unidos



(Ponce et al., 2015)

Figura 4

Clasificación de antibióticos y mecanismos de resistencia

Tipo de antibiótico (ejemplos)	Modos de resistencia
β-Lactámicos (Penicilinas, Cefalosporinas, Carbapenems, Monobactámicos)	Hidrólisis, eflujo, modificación de receptores
Aminoglicósidos (Gentamicina, Estreptomina, Espectinomicina)	Fosforilación, acetilación, nucleotidilación, eflujo, modificación de receptores
Glicopéptidos (Vancomicina, Teicoplanina)	Reprogramación de la biosíntesis del péptidoglucano
Tetraciclinas (Minociclina, Tigeciclina)	Mono oxigenación, eflujo, modificación de receptores
Macrólidos (Eritromicina, Azitromicina)	Hidrólisis, glicosilación, fosforilación, eflujo, modificación de receptores
Lincosamidas (Clindamicina)	Nucleotidilación, eflujo, modificación de receptores
Estreptograminas (Synercid)	Liasa C-O (estreptograminas de tipo B), acetilación (estreptograminas de tipo A), eflujo, modificación de receptores
Oxazolidinonas (Linezolid)	Eflujo, modificación de receptores
Fenicoles (Cloramfenicol)	Acetilación, eflujo, modificación de receptores
Quinolonas (Ciprofloxacina)	Acetilación, eflujo, modificación de receptores
Pirimidinas (Trimetoprim)	Eflujo, modificación de receptores
Sulfonamidas (Sulfametoxazol)	Eflujo, modificación de receptores
Rifamicinas (Rifampicina)	Ribosilación de la ADP, eflujo, modificación de receptores
Lipopéptidos (Daptomicina)	Modificación de receptores
Péptidos catiónicos (Colistina)	Modificación de receptores, eflujo

(González et al. , 2019)

Oxitetraciclina

Antibiótico de amplio espectro perteneciente al grupo de las tetraciclinas. Este trabaja inhibiendo la síntesis de proteína en los microorganismos susceptibles a este al penetrar en la célula bacteriana. Luego llega a unirse a la subunidad 30S de los ribosomas e impide el acceso del aminoacil-RNA al sitio de unión del complejo RNAm-ribosomal. Esta unión es irreversible impidiendo la asociación de los aminoácidos de la cadena peptídica. La oxitetraciclina es principalmente bacteriostática frente a bacterias gram-positivas y gram-negativas y también frente a otros organismos como micoplasma, espiroquetas, clamidia y rickettsias. Las tetraciclinas se dividen en tres grupos según su liposolubilidad, ya que entre mayor liposolubilidad mayor es su índice de absorción y unión a proteína plasmática haciendo más lenta su biotransformación. Los grupos son:

- ✓ Hidrosolubles
- ✓ Solubilidad media
- ✓ Liposolubles

Al administrar las tetraciclinas por vía oral estas se absorben en el estómago y primera porción del intestino delgado de donde se distribuye por todos los tejidos y líquidos del organismo. La tetraciclina se concentra en el hígado y se excreta a través de bilis(Dupuy, 2016).

Figura 5

Principales miembros de la familia de las tetraciclinas

Nombre Químico	Nombre Genérico	Vía de administración
7, Clortetraciclina	Clortetraciclina (1ºgen)	Oral
5, Hidroxitetraciclina	Oxitetraciclina (1ºgen)	Oral y parenteral
Tetraciclina	Tetraciclina (1ºgen)	Oral
6-demetil-7-clortetraciclina	Demetilclortetraciclina (1ºgen)	Oral
2-N-Pirrolidinometiltetraciclina	Rolitetraciclina (1ºgen)	Oral
2-N-Lisinometiltetraciclina	Limeciclina (1ºgen)	Oral y parenteral
N-Metilol-7-clortetraciclina	Clomociclina (1ºgen)	Oral
6-Metileno-5- hidroxitetraciclina	Metaciclina (2ªgen)	Oral
6-Deoxi-5-hidroxitetraciclina	Doxiciclina (2ªgen)	Oral y parenteral
7-Dimetilamino-6-demetil-6- deoxitetraciclina	Minociclina (2ªgen)	Oral y parenteral
9-(t-butilglicilamido)- minociclina	Butilglicilamidominoci-clina (Glicilciclina) (3ªgen)	Parenteral

(Dupuy, 2016)

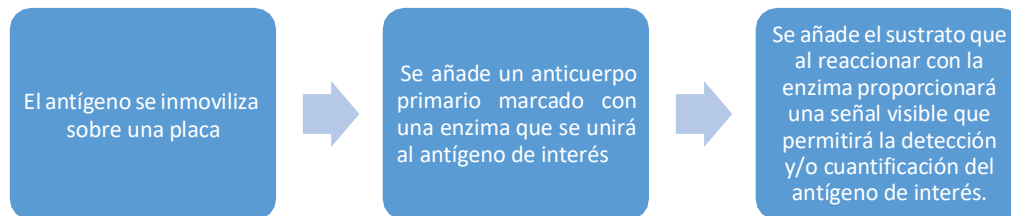
Método de ELISA

Los inmunoensayos ELISA hoy en día son muy utilizados en la investigación y diagnóstico ya que son sencillos y de rápido procesamiento, ayudan a la identificación o cuantificación de analitos de naturaleza proteica como péptida,

proteínas, anticuerpos y hormonas. Este tipo de ensayos se puede clasificar en cuatro categorías dependiendo las interacciones antígeno-anticuerpo.

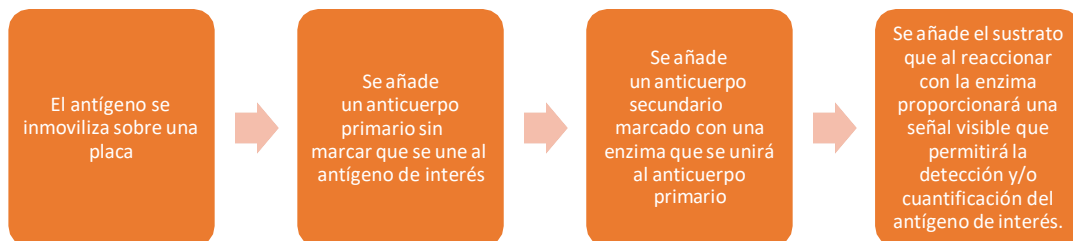
ELISA directo: este es el más simple y rápido, que se basa en la unión directa de un anticuerpo primario marcado con una enzima al antígeno de interés que permite la detección o cuantificación de la misma(Abyntek, 2019).

Figura 6



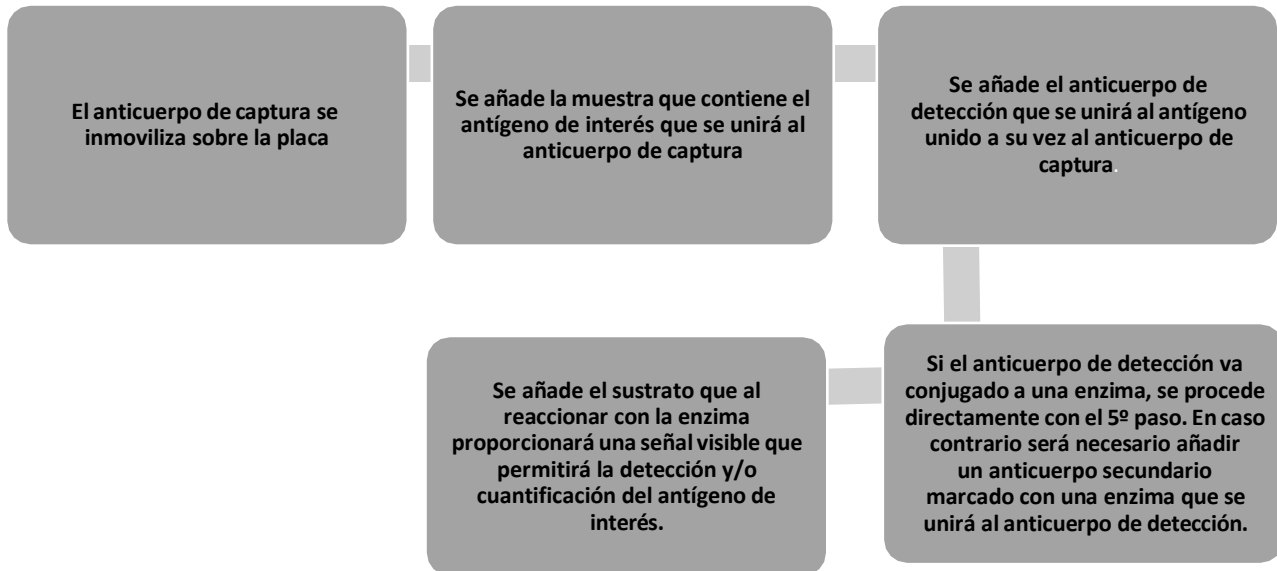
ELISA indirecto: es similar al ELISA directo. En este caso se utilizan dos anticuerpos, uno primario y otro secundario, es el anticuerpo secundario el que se conjuga a una enzima(Abyntek, 2019).

Figura 7



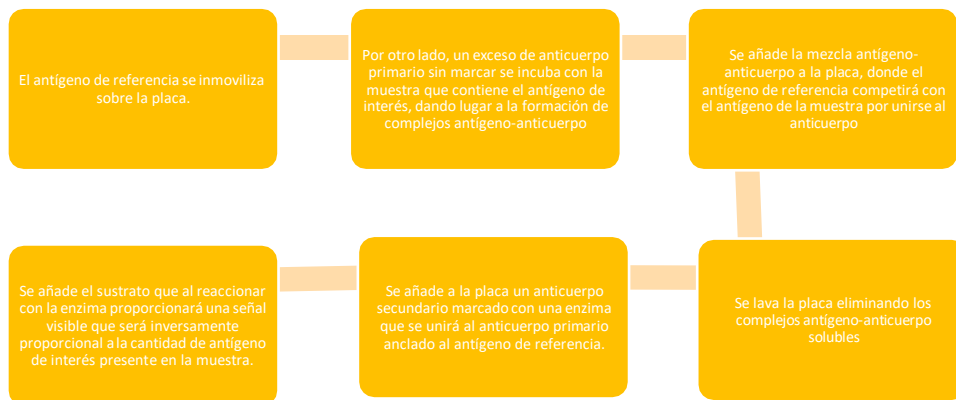
ELISA tipo sándwich: En este tipo de ensayo el antígeno queda inmóvil entre dos anticuerpos, un anticuerpo de captura y el otro de detección. También se les conoce como pares de anticuerpos que se unirán a dos epítopos distintos de un mismo antígeno (Abyntek, 2019).

Figura 8



ELISA competitivo: esta es una variante más compleja, debido al uso de un antígeno de referencia que competirá con el antígeno de la muestra por unirse al anticuerpo primario (Abyntek, 2019).

Figura 9



MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Recursos humanos

- Estudiante investigador
- Dos asesores
- Inspectores de inocuidad del VISA-MAGA
- Encargado de establecimiento a muestrear
- Encargada de laboratorio

Recursos biológicos

- 20 muestras de camarón congelado importado de Ecuador

Recursos de campo

- Vehículo
- Hielera
- Gel refrigerante
- Bolsas plásticas para muestra
- Marcador
- Etiqueta autoadhesivas para identificar muestras
- Libreta de apuntes

Recursos de oficina

- Computadora
- Internet
- Hojas bond
- Lapicero

Metodología

La investigación se realizó con el apoyo del Departamento de Productos de Origen Animal e Hidrobiológicos de la Dirección de Inocuidad del Viceministerio de Sanidad Agropecuaria y Regulaciones -VISAR- del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación -MAGA-, ya que la dirección es la autoridad competente encargada de asegurar la inocuidad de los alimentos no procesados durante sus diferentes etapas; producción, transformación, almacenamiento, transporte, importación y exportación, esto lo realiza a través de un programa de muestreo nacional que les permite detectar la presencia o ausencia de ciertas sustancias y residuos nocivos a la salud humana en camarón de cultivo.

Diseño del estudio

Se trata de un estudio descriptivo de corte transversal.

Área de estudio

Las muestras fueron tomadas al azar equitativamente de 4 empresas que importan un mayor volumen de camarón (*Litopenaeus vannamei*) congelado de Ecuador. Posterior a esto se programaron visitas a los establecimientos con el acompañamiento de los inspectores del VISAR-MAGA.

Unidad de muestreo

Camarón (*Litopenaeus vannamei*) importado de Ecuador.

Población y muestra

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia siguiendo lo establecido por el Departamento de Productos de Origen Animal e Hidrobiológicos del VISAR-MAGA según la Directiva de la comisión de la Unión Europea No. 96/23 que establece que se debe tomar una muestra por cada 100 toneladas métricas de producción de camarón.

Procedimiento de muestreo

Se tomaron 60 muestras de la siguiente forma: de cada muestra se tomaron tres, la primera con destino al laboratorio, la segunda fue la contra muestra que queda bajo custodia del VISAR-MAGA y la tercera queda como contra muestra en el Establecimiento. Según la Directiva de la comisión de la Unión Europea No. 96/23 se debe tomar una muestra por cada 100 toneladas métricas de producción de camarón. Las muestras fueron recolectadas de 4 empresas importadoras de camarón del Ecuador.

- Al tomar la muestra, esta se colocó en una bolsa especial para análisis de laboratorio (wirpack de 55 onzas), la cual se llenó con aproximadamente 500gramos de camarón.
- Cada muestra fue identificada con el correlativo que le asignó el Departamento de Productos de Origen Animal e Hidrobiológicos del VISAR-MAGA.
- Las muestras fueron transportadas en hieleras con suficiente hielo.
- Las muestras se enviaron al laboratorio de inocuidad del –VISAR-MAGA- en el km 22.
- En el laboratorio se analizaron las muestras con el método de ELISA competitivo.

Método de laboratorio

En el laboratorio se llevó a cabo el análisis de las muestras a través del método de ELISA competitivo, que es un inmunoensayo enzimático competitivo para el análisis cuantitativo de oxitetraciclina en músculo. Esta una herramienta de diagnóstico precisa y rápida.

El principio de este ensayo se basa en recubrir los pocillos de la placa de ELISA con el fármaco de interés. La muestra se agrega junto con el anticuerpo primario específico para el fármaco objetivo. Si el fármaco objetivo está presente en la muestra, competirá por el anticuerpo evitando que este se una al fármaco adherido al pocillo. El anticuerpo secundario, etiquetado con una enzima

peroxidasa, se dirige al anticuerpo primario que forma un complejo con el fármaco adherido a los pocillos de la placa. La intensidad del color resultante después de agregar el sustrato tiene una relación inversa con la concentración objetivo de la muestra. Para realizar dichas pruebas, es muy importante seguir a detalle las indicaciones del fabricante según el kit que se utilice.

Extracción de la muestra

- ✓ A 1 gramo de la muestra homogenizada, se colocó en un tubo cónico de plástico con 15ml de capacidad y agregar 5 ml del búfer de extracción OXYTET.
- ✓ Se agitó la muestra en el vortex por 3 minutos inclinando el tubo a 45° para ayudar a romper el pellets, luego se incubó durante 5 minutos a 6°C.
- ✓ Se centrifugó la muestra durante 10 minutos a 4,000 x g.
- ✓ Se transfirieron 100 µl del sobranate a 75 µl del búfer OXYTET en un tubo de 2ml, luego se agitó brevemente el tubo en el vortex y después se agregó 325 µl del diluyente 1X TET.
- ✓ Se agitó la muestra en el vortex por 1 minuto, se volvió a incubar la muestra durante 10 minutos a temperatura ambiente y luego se agitó por 1 minuto más.
- ✓ Se centrifugó la muestra por 5 minutos a velocidad máxima (~ 12.000 x g) en una micro centrifugadora.
- ✓ Se utilizaron 75 µl por pocillo en el ensayo.

Procedimiento de prueba

- Se agregó 75µl del estándar de oxitetraciclina en la placa en orden de concentración, de más baja a más alta, iniciando con el control negativo.
- Se agregó 75 µl de cada muestra por duplicado en los diferentes pocillos. Por la naturaleza de la muestra pudo haberse formado un precipitado. En este caso se agitó la muestra antes de agregarla a los pocillos.

- Se agregó 100 µl de la solución anticuerpo #1 y se mezcló por 1 minuto, moviendo de adelante hacia atrás sobre una superficie plana.
- Se incubó la placa por 55 minutos a temperatura ambiente (20-25°C)
- Se lavó la placa 3 veces con 250 µl de la solución de lavado 1X, luego de esto se invirtió la placa y se secó suavemente con toalla de papel.
- Se agregó 150 µl de la solución 1X anticuerpo #2 y se mezcló por 1 minuto, moviendo de adelante hacia atrás sobre una superficie plana. Durante este proceso se golpeó el borde del soporte del pozo contra un elemento firme (mano o dedo) en la superficie plana, teniendo cuidado de no derramar líquido.
- Se incubó la placa a temperatura ambiente (20-25°C) por 20 minutos.
- Se lavó la placa 3 veces con 250 µl de la solución de lavado 1X, luego de esto se invirtió la placa y se secó suavemente con toalla de papel.
- Se agregó 100 µl del sustrato TMB en cada pocillo. Se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente (20-25°C). Se midió el tiempo de la reacción luego de agregar el sustrato TMB. Se mezcló por 1 minuto, moviendo de adelante hacia atrás durante la incubación.
- Luego de la incubación se agregó 100 µl de la solución Buffer detenedor para terminar la reacción enzimática.
- Se realizó la lectura de las placas, luego de agregar la solución Buffer detenedor. La lectura se realizó sobre un lector de placa con un filtro primario de 450 nm y 630 nm de filtro diferencial de longitudes de onda.

Análisis de datos

Luego de obtener los resultados, estos se analizaron por medio de estadísticas descriptivas estableciendo el promedio de oxitetraciclina en las muestras de camarón congelado. Se presentan los resultados a través de cuadros y gráficas.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Los resultados fueron obtenidos durante 6 meses, de abril a septiembre del 2021. Las muestras de camarón (*Litopenaeus vannamei*) congelado importado a Guatemala proveniente de Ecuador fueron tomadas según el acuerdo ministerial No. 03-2012 "manual de procedimiento para la toma de muestras de camarón y su envío al laboratorio del programa nacional de monitoreo para la detección de sustancias y residuos nocivos a la salud humana en camarones de cultivo". Las muestras fueron tomadas de 4 empresas diferentes en fechas distintas según la importación de cada una.

Tabla 1

Resultados cuantitativos de la concentración de oxitetraciclina en partes por billón de muestras de carne de camarón congelado (*Litopenaeus vannamei*) importado de Ecuador.

Correspondientes a la empresa No.1

FECHA	RESULTADO	UNIDAD DE MEDIDA	L.D
23/04/2021	27.967	Ppb	3.60 ppb
23/04/2021	11.424	Ppb	3.60 ppb
23/04/2021	6.07	Ppb	3.60 ppb
23/04/2021	13.682	Ppb	3.60 ppb
23/04/2021	15.703	Ppb	3.60 ppb

Partes por billón (Ppb), Limite de Detección (L.D.)

Fuente. Elaboración Propia

Tabla 2

**Resultados cuantitativos de la concentración de oxitetraciclina en partes por billón de muestras de carne de camarón congelado (*Litopenaeus vannamei*) importado de Ecuador.
Correspondientes a la empresa No.2**

FECHA	RESULTADO	UNIDAD DE MEDIDA	L.D
17/06/2021	29.114	Ppb	3.60 ppb
17/06/2021	19.934	Ppb	3.60 ppb
17/06/2021	14.052	Ppb	3.60 ppb
17/06/2021	11.508	Ppb	3.60 ppb
17/06/2021	14.53	Ppb	3.60 ppb

Partes por billón (Ppb), Limite de Detección (L.D.)

Fuente. Elaboración Propia

Tabla 3

**Resultados cuantitativos de la concentración de oxitetraciclina en partes por billón de muestras de carne de camarón congelado (*Litopenaeus vannamei*) importado de Ecuador.
Correspondientes a la empresa No.3**

FECHA	RESULTADO	UNIDAD DE MEDIDA	L.D
30/06/2021	7.35	Ppb	3.60 ppb
30/06/2021	9.12	Ppb	3.60 ppb
06/07/2021	8.05	Ppb	3.60 ppb
06/07/2021	10.08	Ppb	3.60 ppb
06/07/2021	9.55	Ppb	3.60 ppb

Partes por billón (Ppb), Limite de Detección (L.D.)

Fuente. Elaboración Propia

Tabla 4

Resultados cuantitativos de la concentración de oxitetraciclina en partes por billón de muestras de carne de camarón congelado (*Litopenaeus vannamei*) importado de Ecuador.

Correspondientes a la empresa No.4

FECHA	RESULTADO	UNIDAD DE MEDIDA	L.D
20/09/2021	8.083	Ppb	3.60 ppb
20/09/2021	9.194	Ppb	3.60 ppb
20/09/2021	22.860	Ppb	3.60 ppb
11/05/2021	10.150	Ppb	3.60 ppb
11/05/2021	11.521	Ppb	3.60 ppb

Partes por billón (Ppb), Limite de Detección (L.D.)

Fuente. Elaboración Propia

Tabla 5

Resultados obtenidos de muestras de carne de camarón congelado (*Litopenaeus vannamei*) importado de Ecuador, de abril a septiembre del 2021.

Mes	Muestras realizada	Positivas	Negativa
Abril	5	5	0
Mayo	2	2	0
Junio	7	7	0
Julio	3	3	0
Agosto	0	0	0
Septiembre	3	3	0

Fuente. Elaboración Propia

Discusión

Las 20 muestras de camarón (*Litopenaeus vannamei*) obtenidas de 4 empresas diferentes han dado positivas a presencia de residuos de oxitetraciclina, sin embargo estos resultados se encuentran por debajo de los límites máximos residuales (LMR) según el marco conceptual del programa nacional de monitoreo para la detección de sustancias y residuos nocivos a la salud humana en camarones que nos indica que el LMR de oxitetraciclina permitido en camarón es de 100 ppb(MAGA, 2013).

En los últimos años la camaronicultura ha tenido un aumento en su producción debido a la alta demanda. Se estimó que para el cierre del año 2020 la producción a nivel mundial de camarón fue superior a los 5 millones de toneladas. Según Hernández y colaboradores (2021) esto puede deberse a los importantes niveles de producción en diferentes países del mundo; ya que los camarones han sido una especie altamente investigada porque se les puede encontrar en diferentes ambientes acuáticos y por su importante aporte nutricional a la dieta de las personas, podemos encontrar más de 14,750 especies tanto en agua dulce como en agua salada. En la actualidad el camarón más cultivado es el *Penaeus vannamei* (Alexander et al., 2018).

A pesar de que los valores encontrados en esta investigación se encuentran muy por debajo del LMR sigue representando una amenaza al consumidor con respecto a la resistencia antimicrobiana ya que según Casana (2017) aun en (pequeñas cantidades el consumo indirecto de antibióticos puede ocasionar daños a la salud del consumidor o a sus descendencias(Casana , 2017).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) se ha dado a la tarea de poder reducir el uso de antibióticos en la industria agropecuaria y piscicultura, ya que muchos productores utilizan los antibióticos para poder estimular el crecimiento en animales que no padecen ninguna enfermedad, el 80% del consumo de antibióticos

es atreves de comer alimentos de origen animal (Organización de las Naciones Unidas [ONU], 2017)

La resistencia bacteriana no es lo único que preocupa hoy en día ya que existen estudios que demuestran que en el sedimento de las piscinas de cultivo de camarón también se encuentran residuos de oxitetraciclina ya que parte del medicamento es expulsado por las heces. Por otro lado al acumularse residuos de oxitetraciclina en el tejido del camarón este al ser consumido por las personas puede alterar la microbiota intestinal causando problemas de intoxicación (Santiago et al., 2009)

V. CONCLUSIONES

- Se determinó que de las 4 empresas evaluadas el 100% de las muestras ha resultado positivas a residuos de oxitetraciclina en camarón (*Litopenaeus vannamei*) congelado.
- La concentración observada en las 20 muestras tomadas se encuentran por debajo del límite máximo residual según el marco conceptual del programa nacional de monitoreo para la detección de sustancias y residuos nocivos a la salud humana en camarones.

VI. RECOMENDACIONES

- A las autoridades correspondientes, poder dar el seguimiento adecuado tanto a las empresas encargadas de las importaciones de camarón como a los productores nacionales, para que el uso de antibióticos utilizados a estimular el crecimiento en la producción sea utilizado cada vez menos.
- A futuros investigadores, poder realizar un muestreo a nivel nacional con respecto a los antibióticos más utilizados y así tener una base de datos y realizar las mejoras correspondientes.

VII. RESUMEN

Los alimentos de origen de la pesca son uno de los productos más exportados e importados en nuestro país. Por su alta demanda específicamente de camarón (*Litopenaeus vannamei*) también han incrementado las enfermedades bacterianas y virales que afectan la producción. Por lo tanto los productores utilizan antibióticos en el alimento del camarón como una medida profiláctica. El antibiótico más utilizado por su amplio espectro es la oxitetraciclina.

En Guatemala existen diversas empresas que se dedican a importar camarón como materia prima para poder transformarlo y así exportarlo a diferentes países. La inocuidad de los alimentos es algo que preocupa a la mayoría de los países a donde se exporta el producto final. Por lo tanto, se tomaron muestras de camarón (*Litopenaeus vannamei*) congelado importado de Ecuador en 4 empresas diferentes. Dichas muestras fueron evaluadas a través del método de laboratorio ELISA competitivo ya que es un inmunoensayo rápido y preciso para la detección de oxitetraciclina en musculo de camarón.

De las 20 muestras obtenidas el 100% fueron positivas a residuos de oxitetraciclina. Los niveles encontrados se encuentran por debajo del límite máximo residual (LMR) que es de 100 ppb según el marco conceptual del programa nacional de monitoreo para la detección de sustancias y residuos nocivos a la salud humana en camarones.

SUMMARY

Foods of fishing origin are one of the most exported and imported products in Guatemala, due to their high demand specifically for shrimp (*Litopaneaus vannamei*). They have also increased bacterial and viral diseases that affect production. Therefore producers use antibiotics in shrimp feed as a prophylactic measure. The most widely used antibiotic due to its broad spectrum is oxytetracycline.

In Guatemala there are several companies dedicated to importing shrimp as raw material to be able to transform it and thus export it to different countries. Food safety is something that concerns most of the countries where the final product is exported. Therefore, samples of frozen shrimp (*Litopaneaus vannamei*) imported from Ecuador were taken from 4 different companies. These samples were evaluated by competitive ELISA laboratory method since it is a rapid and precise immunoassay for the detection of oxytetracycline in shrimp muscle. shrimp.

Of the 20 samples obtained, 100% were positive for oxytetracycline residues. The observed values are below the maximum residual limit (MRL) which is 100 ppb according to the conceptual framework of the national monitoring program for the detection of substances and residues harmful to human health in shrimp.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abyntek. (Junio de 2019). *Tipos de ELISA*. <https://www.abbyntek.com/tipos-de-elisa/#:~:text=Como%20ya%20hemos%20comentado%20en,tipo%20s%C3%A1ndwich%20y%20ELISA%20competitivo>.
- Barrera, J. C. (11 de noviembre de 2021). *El Economista*. Recuperado el 11 de noviembre de 2021, de <https://www.eleconomista.com.mx/opinion/Perspectiva-de-la-produccion-de-camaron-ante-el-Covid-19-20210810-0128.html>
- Cámara Nacional de Acuicultura. (2017). La Resistencia Antimicrobiana, Un Peligro Para la Salud Pública. *Aqua Cultura*, 24 - 25. https://issuu.com/revista-cna/docs/aqua_116
- Casana, C. (2017). *El uso de antibioticos en la industria alimentaria y su contribución al desarrollo de resistencias*. [Tesis de pregrado, Universidad de Complutense de Madrid].
- De Beausset, A. (Octubre de 2018). *El cultivo de camarón en Guatemala se hace intensivo*. *Global Aquaculture Advocate*. <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/el-cultivo-de-camaron-en-guatemala-se-hace-intensivo/#:~:text=M%C3%A1s%20de%20100%20granjas%20intensivas,construcci%C3%B3n%20de%20nuevos%20estanques%20intensivos>.
- Díaz, V. (2014). *Perfil comercial camarón*. Dirección de planeamiento del ministerio de Agriculturas, Ganadería y Alimentación de Guatemala. <https://www.maga.gob.gt/download/perfil%20camaron.pdf>
- Dupuy A. (2016). *Farmacocinética de oxitetraciclina en dosificación oral múltiple en cerdos*. [Tesis de doctorado, Universidad de Complutense de Madrid].



González, J., Maguiña, C., & González, F. D. M. (2019). La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Médica Peruana*, 36(2), 145-151.

Jory, D. (Julio de 2018). *Simposio de Acuicultura en Guatemala. Global Aquaculture*.
[https://www.aquaculturealliance.org/advocate/la-produccion-actual-desafios-y-el-futuro-del-cultivo-del-camaron/#:~:text=La%20industria%20mundial%20de%20camar%C3%B3n%20cultivado&text=Los%20pa%C3%ADses%20asi%C3%A1ticos%20\(China%2C%20Tailandia,la%20producci%](https://www.aquaculturealliance.org/advocate/la-produccion-actual-desafios-y-el-futuro-del-cultivo-del-camaron/#:~:text=La%20industria%20mundial%20de%20camar%C3%B3n%20cultivado&text=Los%20pa%C3%ADses%20asi%C3%A1ticos%20(China%2C%20Tailandia,la%20producci%)

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación MAGA. (2013). *Marco conceptual del programa nacional de monitoreo para la detección de sustancias y residuos nocivos a la salud humana en camarones*. Recuperado el 1 de noviembre de 2020, de https://visar.maga.gob.gt/visar/ia/norm_hidro/31E-164.pdf

Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria [OIRSA]. (2018). *Manual de Buenas Practicas Acuicolas*.

Organización de las Naciones Unidas ONU. (7 de Noviembre de 2017). *Noticias Naciones Unidas*. Recuperado el 11 de Noviembre de 2021, de <https://news.un.org/es/story/2017/11/1421761>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2020). *El estado mundial de la perca y la acuicultura*. Roma.

Organización Mundial de la Salud [OMS]. (27 de 07 de 2017). *Organización Mundial Para la Salud*. Recuperado el 01 de 11 de 2020, de <https://www.who.int/features/qa/75/es/>

Organización Mundial de la Salud OMS. (10 de 02 de 2019). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado el 01 de 11 de 2020, de https://www.who.int/topics/food_safety/es/




- Ponce, S., Arredondo-Hernández, R., & López-Vidal, Y. (2015). *La resistencia a los antibióticos: Un grave problema global. Gaceta médica de México*, 151(5), 681-689 República Gt. (10 de Marzo de 2020). *Republica Gt.* Obtenido de <https://republica.gt/2020/03/10/modelo-asiatico-cultivo-camaron-guatemala/>
- Santiago, M. L., Espinosa, A., & del Bermúdez, M. (2009). Uso de antibióticos en la camaronicultura. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 40(3), 22-32.
- TOOLS, ISO. (16 de 01 de 2018). *Blog Calidad y Excelencia*. Recuperado el 01 de 11 de 2020, de <https://www.isotools.org/2018/01/16/la-importancia-la-inocuidad-alimentaria/>
- Varela-Mejías & Alfaro-Mora. (2018). Revisión sobre aspectos farmacológicos a considerar para el uso de antibióticos en la camaronicultura. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(1), 1-14.



X. ANEXOS

BOLETA TOMA DE MUESTRAS MAGA

 MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN	Dirección de Inocuidad	Código:
	Departamento de productos de origen animal e hidrobiológicos	Versión: 1
	BOLETA TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS	Página 1 de 1

Fecha de toma de muestra:
Código de la muestra:
Producto: Categoría:
Laboratorio:

ANÁLISIS A REALIZAR			
RESIDUOS QUÍMICOS		ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	
Cloranfenicol	Metales pesados Cadmio Mercurio Plomo	Histamina	Camarón Salmonella E.coli Staphylococcus sp
Nitrofuranos Nitrofurantoina Metabolito Furalfadona Metabolito Furazolidona Metabolito Nitrofurazona Metabolito	Nitronidazoles Metronidazol Dimetridazol Rodinazol HMMNI	Dioxinas Dioxinas PCB's Similares CB's No Similares	Atún Listeria monocytogenes
Antibióticos Oxitetraciclina Tetraciclina Florfenicol Enrofloxacina Ciprofloxacina Sarafloxacina Fosfomicina	Antihelmínticos Emamectina Ivermectina	Organoclorados DDT Aldrin Clorotalonil Endosulfán	Pescado Listeria monocytogenes Salmonella E.coli Staphylococcus sp
Colorantes Verde de Malaquita Verde de Leucomalaquita Cristal Violeta Leuco Cristal Violeta	Micotoxina Aflatoxina	Sulfitos Metabisulfito	Agua Físicoquímico
Otros:			Agua/Hielo E. coli Recuento de Coliformes Fecales Recuento de Coliformes Totales Streptococcus fecalis


Fecha de recepción de muestras	
Nombre de la persona que recibe la muestra en el laboratorio	


Firma y Sello Inspector

Firma y Sello Laboratorio

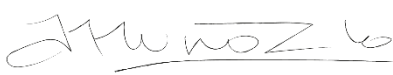
**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE OXITETRACICLINA EN
CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*) CONGELADO PROVENIENTE
DE ECUADOR**

f. 
RUDY ARIEL MONTES MORATAYA

f. 
M.A. LUDWIG ESTUARDO FIGUEROA
ASESOR PRINCIPAL

f. 
M.A. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA
ASESOR

f. 
M.A. MARÍA ANDREA MUÑOZ LORENZANA
EVALUADORA

IMPRIMASE

f.  
M.A. RODOLFO CHANG SHUM DECANO
DECANO