



Eficacia de SNAP DUO ST Plus y HPLC en la detección de residuos de antibióticos en leche cruda del Valle del Mantaro, Perú

Villar, F.A.¹ ; Estremadoyro, L.G.¹ ; Payano, I.U.¹ ; Sanchez, N.M.¹ ; Laurente, K.A.¹ ; Maurico-Ramos, Y.¹ ; Carhuas, J.N.^{1,2*} 

¹Departamento Académico de Zootecnia. Universidad Nacional del Centro del Perú. Av. Mariscal Castilla N° 3909 - El Tambo, Huancayo, Junín, Perú. ²Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Peruana Los Andes. Huancayo, Perú. ✉ jninahuanca@uncp.edu.pe

Resumen

El objetivo del presente estudio fue determinar y comparar la eficacia de SNAP DUO ST Plus y HPLC en la detección de residuos de antibióticos en la leche producida para garantizar la inocuidad alimentaria. Con este objetivo, se evaluaron muestras de leche cruda de 32 hatos lecheros y 8 centros de acopio utilizando la prueba rápida SNAP DUO* ST Plus para detectar tetraciclinas y β -lactámicos, y el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). El análisis se realizó en laboratorios de la Universidad Nacional del Centro del Perú. Se analizaron 80 muestras de leche, encontrándose residuos de antibióticos en el 37,5% de las muestras mediante SNAP DUO, y en el 52,5% mediante HPLC. La prueba SNAP DUO mostró una concordancia sustancial con HPLC ($Kappa=0,734$), con sensibilidad y especificidad del 89,3% y 95,3%, respectivamente, frente al 100% de HPLC. En términos de costo-efectividad, HPLC presentó un mayor costo por resultado correctamente identificado (S/ 20,27), en comparación con SNAP DUO (S/ 7,24), que fue identificado como el método más eficiente. Se recomienda la implementación de SNAP DUO en programas de monitoreo de residuos de antimicrobianos en leche por su efectividad y eficiencia, mientras que HPLC es ideal para investigación y corroboración de resultados, contribuyendo a la mejora de la inocuidad alimentaria en el consumo de leche.

Palabras clave: Pruebas diagnósticas leche, Screening rápido, Sensibilidad, Especificidad, Costo-efectividad.

Efficacy of SNAP DUO ST Plus and HPLC in the detection of antibiotic residues in raw milk from the Mantaro Valley, Peru

Abstract. The objective of the present study was to determine and compare the efficacy of SNAP DUO ST Plus and HPLC in the detection of antibiotic residues in milk produced to ensure food safety. To this end, raw milk samples from 32 dairy herds and 8 collection centers were evaluated using the SNAP DUO* ST Plus rapid test for tetracyclines and β -lactams, and the high-performance liquid chromatography (HPLC) method. The analysis was conducted in laboratories at the National University of the Center of Peru. A total of 80 milk samples were analyzed, with antibiotic residues found in 37.5% of the samples using SNAP DUO, and in 52.5% using HPLC. The SNAP DUO test showed substantial agreement with HPLC ($Kappa=0.734$), with a sensitivity and specificity of 89.3% and 95.3%, respectively, compared to 100% for HPLC. In terms of cost-effectiveness, HPLC presented a higher cost per correctly identified result (S/ 20.27) compared to SNAP DUO (S/ 7.24), which was identified as the most efficient method. The implementation of SNAP DUO in antimicrobial residue monitoring programs in milk is recommended due to its effectiveness and efficiency, while HPLC is ideal for research and corroboration of results, contributing to the improvement of food safety in milk consumption.

Key words: Milk diagnostic tests, Rapid screening, Sensitivity, Specificity, Cost- effectiveness.

INTRODUCCIÓN

La generación de productos lácteos constituye una actividad intrínseca al sector agropecuario en el Valle del Mantaro, para el sustento de una parte significativa de la población local (Estremadoyro et al. 2024). No obstante, la existencia de residuos antimicrobianos en la leche (Salas et al. 2013), representa un grave problema que compromete la calidad del producto (Getahun et al. 2023). Este problema se origina en el manejo sanitario ineficiente y el uso indiscriminado de antibióticos en el proceso productivo, lo cual representa un riesgo significativo para la salud pública (Muteeb et al. 2023). La ingesta de leche adulterada con cantidades mínimas de antibióticos puede provocar reacciones de hipersensibilidad, intoxicaciones, alergias y alteraciones en la microflora intestinal, facilitando la invasión de bacterias patógenas (Talero-Pérez et al. 2014, Redwan et al. 2023, Carhuas et al. 2024). Además, contribuye al agravamiento de la problemática global de resistencia a los antimicrobianos (RAM) por parte de bacterias que se vuelven insensibles a estos medicamentos (Diego et al. 2024). Por otro lado, los residuos de antibióticos en la leche pueden interferir con la fermentación normal en la industria láctea, afectando la elaboración de productos derivados, tales como el queso y el yogurt (Perreten et al. 1998, Arbo et al. 2020). Estas pérdidas, derivadas del menor precio adjudicado a un producto de baja calidad, impactan negativamente en la economía de los productores ganaderos, limitando su capacidad para implementar mejoras y buenas prácticas en la producción lechera.

Diversas pruebas están disponibles para el diagnóstico de residuos(antibióticos) en la leche, como los métodos de cilindros en placas, diluciones en tubos de ensayo y discos de papel (Rajia et al. 2024). No obstante, existen métodos más modernos y prácticos (Talero-Pérez et al. 2014), tales como las pruebas de screening rápidas (Pitino et al. 2021) y los enfoques analíticos, tales como la cromatografía líquida de elevada precisión (HPLC), que ofrecen una mayor eficacia en la identificación de trazas de antibióticos y pueden actuar como pruebas confirmatorias o de referencia (Samanidou y Nisyriou 2008), permitiendo la identificación y cuantificación precisa de determinados analitos (Talero-Pérez et al. 2014).

El aporte teórico y científico de esta investigación radica en la validación de una técnica más eficaz y de bajo costo, que permita a las instituciones involucradas en la producción inocua de leche impulsar estrategias de monitoreo a nivel toxicológico para mejorar la calidad de este alimento. Por todo lo antes mencionado, se planteó el objetivo de determinar la eficacia de SNAP DUO ST Plus y HPLC en la detección de residuos de antibióticos en la leche.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y muestras. El presente estudio se desarrolló en 32 hatos bovinos distribuidos en las localidades de Jauja, Chupaca, Concepción y Huancayo, situadas en el Valle del Mantaro, dentro de la región Junín, Perú, a una altitud promedio de 3.200 metros sobre el nivel

del mar. Cada hato contenía 20 vacas en producción, al azar se escogió una vaca por hato, representando una muestra por cada hato. Este entorno caracterizado por un sistema productivo semiintensivo, se extrajeron asépticamente muestras de leche de cada vaca seleccionada al azar de cada hato antes del inicio del ordeño (primer ordeño de la mañana a las 6:00 a.m.) utilizando recipientes estériles. Previa a la recolección, la leche fue agitada durante cuatro minutos, conforme a la metodología detallada por García-Olarte et al. (2024). El proceso de muestreo fue no probabilístico, de conveniencia. En total, se obtuvieron 32 muestras provenientes de hatos de diferentes tamaños (pequeños, medianos y grandes) y 8 muestras del mercado mayorista de Huancayo, haciendo un total de 40 muestras en el Valle del Mantaro. Las muestras colectadas fueron analizadas en los Laboratorios de Microbiología y de Bioquímica (un análisis para cada muestra), de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional del Centro del Perú.

Identificación de residuos de antibióticos. Se emplearon dos métodos para la detección de antibióticos en la leche: la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), reconocida como prueba patrón para contrastar la sensibilidad FVP (fracción de verdaderos positivos) y especificidad FVN (fracción de verdaderos negativos), y la prueba rápida SNAP Duo ST Plus. El equipo HPLC utilizado fue el modelo Chromaster 5160 de la marca Hitachi, equipado con una bomba cuaternaria Chromaster de 600 bares (modelo CM-5160), un desgasificador de vacío Chromaster de 6 canales, gradiente de baja presión, un horno para columnas Chromaster CM-5310, un automuestreador Chromaster CM-5260 con termostato, y un detector de matriz de diodos Chromaster DAD CM-5430 sin celda de flujo. Se empleó una columna analítica de acero inoxidable Ascentis Express 90 A C18 (15 cm x 4,6 mm, 5 μ m – Supelco), empaquetada con Ascentis Express 90 A C18 de 0,5 cm x 4,6 mm, 5 μ m (Guard Column - Supelco, 3 pk) y un soporte para columna de guardia Ascentis Express (Supelco 53500-U). El software OpenLab versión A.04.07 SR2 se utilizó para controlar y procesar los datos.

Para la separación de la fase sólida después de la precipitación de las proteínas en las muestras, se utilizó una centrífuga refrigerada, empleando filtros de membrana de jeringa Millex LCR (33 mm, Philic PTFE, 0,45 μ m) y cartuchos de extracción en fase sólida Discovery DSC-18 SPE (500 mg, 6 ml) para obtener los analitos presentes en cada muestra. Las extracciones en fase sólida se realizaron utilizando un colector de vacío de la marca Supelco acoplado a una bomba de vacío para HPLC.

Los estándares de antibióticos (β -lactámicos y tetraciclinas) y los reactivos acetonitrilo y metanol de grado de gradiente para HPLC fueron adquiridos de la empresa Merk. Se preparó una solución estándar madre de acetonitrilo y agua ultrapura (50:50), y las soluciones estándar de cada antibiótico se obtuvieron disolviendo cantidades específicas de cada compuesto en volúmenes definidos de solución madre. En detalle, se disolvieron 0,0578 g de Cloxacilina Sódica en 50 ml, lo que corresponde al 0,1156%; 0,0500 g de Cefalexina Hidratada en 50 ml (0,100%); 0,0500 g de Cefazolina en 50 ml (0,100%); 0,0253 g de Ampicilina en 25 ml (0,1012%); 0,0554 g de Tetraciclina en 50 ml (0,1108%); 0,0267 g de Dicloxacilina

en 25 ml (0,1068%); y 0,0279 g de Bencilpenicilina en 25 ml (0,1116%) de solución madre, respectivamente (Cámara et al. 2013). Las muestras se almacenaron en crioviales a -20 °C hasta su uso, momento en el cual se descongelaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. Posteriormente, se desproteinizaron añadiendo 5 ml de muestra de leche y acetonitrilo en proporción 1:1, sometiendo la mezcla al Vortex a 2.500 RPM durante 1 minuto y luego a 3.500 RPM durante 20 minutos a una temperatura de 4 °C. Tras un reposo de 10 minutos, el sobrenadante se sometió al equipo de extracción de sólidos en cartuchos Supelclean Ultra de 6 ml, aplicando 5 ml de acetonitrilo seguido de 5 ml de agua ultrapura, repitiendo esta acción dos veces. El líquido decantado se aplicó a la muestra y se adicionaron 3 ml de buffer fosfato y acetonitrilo (30:70) en dos repeticiones. Finalmente, se extrajo el filtrado y se transfirió a viales de HPLC para su procesamiento (Cámara et al. 2013).

Se prepararon curvas de calibración para la detección de tetraciclinas y β -lactámicos mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Para ello, se elaboró un estándar mixto (Estándar Mix) con una concentración total de 20 mg L⁻¹, añadiendo 2 mL de cada analito (siete en total) y completando el volumen hasta 100 mL con agua ultrapura; este estándar se almacenó a 4 °C y se mantuvo estable hasta por un mes. A partir del Estándar Mix, se prepararon cinco concentraciones estándar diferentes para cada grupo de antibióticos, diluyendo volúmenes específicos del Estándar Mix en matraces aforados de 100 mL y completando con agua ultrapura hasta el enrase. Para β -lactámicos, las concentraciones fueron: C1 (5 μ g L⁻¹) con 25 μ L, C2 (10 μ g L⁻¹) con 50 μ L, C3 (20 μ g L⁻¹) con 100 μ L, C4 (50 μ g L⁻¹) con 250 μ L y C5 (100 μ g L⁻¹) con 500 μ L del Estándar Mix. Para tetraciclinas, las concentraciones fueron: C1 (20 μ g L⁻¹) con 200 μ L, C2 (50 μ g L⁻¹) con 500 μ L, C3 (100 μ g L⁻¹) con 1,000 μ L, C4 (150 μ g L⁻¹) con 1,500 μ L y C5 (200 μ g L⁻¹) con 2,000 μ L del Estándar Mix. Estas soluciones estándar se utilizaron para generar las curvas de calibración, relacionando la concentración de los analitos con la respuesta del detector del HPLC.

La separación cromatográfica de los analitos se logró con el siguiente gradiente: 0-2 min, 15% A; 2-10 min, 15%-85% D; 10-13 min, 75% A; 10-13 min, 75%-25% D, y para equilibrar a la presión inicial para una nueva corrida, se continuó con 13-15 min, 15% A; 15%-85% D. Las letras en mayúsculas (A = Fase móvil A, agua ultrapura con 0,1% de ácido fórmico) y D = Fase móvil D, acetonitrilo con 0,1% de ácido fórmico). El automuestreador y la columna se mantuvieron a 22 °C. Las mediciones cuantitativas se realizaron a través del detector de matriz de diodos (DAD), que mide las áreas de los picos resultantes, seleccionando una longitud de onda de 210 nm para maximizar la sensibilidad del método (Cámara et al. 2013).

El kit de screening rápido SNAP utilizado (SNAP Beta-Lactam ST Plus y SNAPduo ST Plus) contiene un pellet conjugado reformulado y patentado, diseñado para detectar de manera precisa y confiable residuos de antibióticos tanto β -lactámicos como tetraciclinas, incluida la cefalexina. Este método no demanda ni calor ni incubación, lo que facilita la ejecución de pruebas directamente en la leche fresca y fría.

Análisis de datos. Se realizó un análisis de

concordancia entre el método HPLC y la prueba rápida SNAP Duo ST Plus, utilizando el estadístico Kappa de Cohen para variables dicotómicas u ordinales (Gordillo y Rodríguez 2009) con el paquete estadístico SPSS versión 25. Los resultados se interpretaron de acuerdo con la escala de concordancia propuesta por Landis y Koch (1977), la cual clasifica los valores de Kappa de la siguiente manera: <0 – poca concordancia, 0,01-0,20 – ligera, 0,21-0,40 – regular, 0,41-0,60 – moderada, 0,61-0,80 – sustancial y 0,81-1,00 – casi perfecta (Bakeman 2023).

Para evaluar la eficacia (sensibilidad y especificidad) del test de screening SNAP, se calcularon los valores de concordancia con la prueba patrón (HPLC) (Subbiah 2023), utilizando una hoja de cálculo Excel. La sensibilidad se determinó dividiendo la cantidad de resultados positivos correctamente identificados entre la suma de verdaderos positivos y falsos negativos, mientras que la especificidad se calculó dividiendo la cantidad de resultados negativos correctamente identificados entre la suma de verdaderos negativos y falsos positivos.

Asimismo, para evaluar la relación costo-efectividad de los métodos empleados, se aplicó el método ACE (análisis de costo-efectividad), que establece la relación promedio de costo-efectividad de las pruebas diagnósticas dividiendo el costo total generado por una prueba entre el valor de efectividad consignado (Muir et al. 2024). La efectividad se representa como la suma de los valores correctamente identificados VP (verdaderos positivos) + VN (verdaderos negativos) por la prueba. Una prueba se considera dominante cuando proporciona un menor valor monetario en la relación promedio de costo-efectividad (VP + VN), siendo así una mejor alternativa para lograr un mismo objetivo. Por el contrario, se considera que una prueba es dominada cuando su relación promedio de costo-efectividad (VP + VN) es mayor que la de la otra prueba.

Principio ético. En cuanto a los aspectos éticos de la investigación, los administradores de los establos lecheros fueron informados detalladamente sobre los objetivos del estudio. Además, se les aseguró que recibirían los resultados de la investigación en un sobre cerrado. Para proteger la privacidad de los datos obtenidos, a cada participante se le asignó un código en la presentación de los resultados (Noreña et al. 2012). Del mismo modo, se siguió los estándares de bienestar animal con ética otorgada por la carta N°001-GRJ-AAC-PERÚ-2024 de fecha 02/01/24.

RESULTADOS

Detección de antibióticos en muestras de leche. En la Figura 1, se observa la comparación entre los resultados obtenidos utilizando los métodos de diagnóstico SNAP DUO y HPLC para la detección de residuos de antibióticos en muestras de leche (un análisis para cada muestra). Se obtuvo que el análisis SNAP DUO identificó residuos en 15 muestras (37,5%), desglosándose en 13 casos (32,5%) de β -lactámicos y 2 casos (5%) de tetraciclinas, sin detección de cefalexinas. Por otro lado, el análisis mediante HPLC reveló la presencia de β -lactámicos en 21 muestras (52,5%), sin detección de tetraciclinas ni cefalexinas.

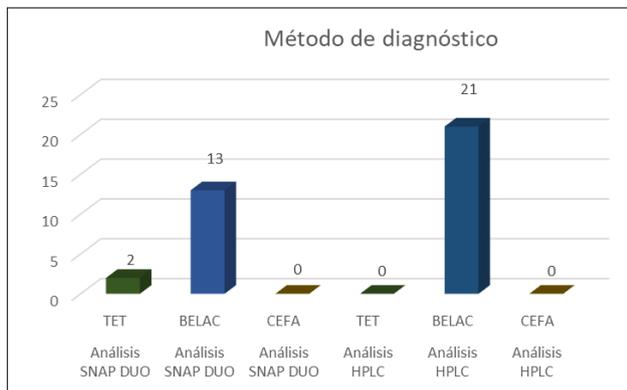


Figura 1. Detección de antibióticos en muestras de leche.

TET (tetraciclinas), BELAC (betalactámicos), CEFA (cefalexinas).

Grado de concordancia del método. El análisis estadístico realizado mediante el estadístico Kappa de Cohen, que compara ambos métodos, permitió determinar el grado de concordancia del método SNAP frente al HPLC con n = 40. Se encontraron 25 verdaderos positivos (10,4%) y 200 verdaderos negativos (83,3%) utilizando la prueba rápida SNAP, en comparación con 28 verdaderos positivos (11,7%) y 212 verdaderos negativos (88,3%) detectados por el método HPLC (Tabla 1).

Se obtuvo un valor de Kappa de 0,734 (p<0,05) encontrando que no existen diferencias significativas entre ambas pruebas, evidenciando una concordancia sustancial de acuerdo con los valores que varían de 0-1 referidos en la escala de Landis y Koch (1977).

Tabla 1. Grado de asociación entre métodos (HPLC y Test de Screening SNAP)

		HPLC		Total	
		VP	VN		
SNAP	Positivo	Recuento (37)	25	37	
		Porcentaje (%)	10,4	5,0	15,4
	Negativo	Recuento (203)	3	200	203
		Porcentaje (%)	1,3	83,3	84,6
Total	Recuento (240)	28	212	240	
	Porcentaje (%)	11,7	88,3	100	

Sensibilidad y especificidad del método SNAP frente a HPLC. La prueba de screening rápido SNAP presentó un grado de sensibilidad del 89,3% y especificidad del 94,3%.

VP = Verdaderos positivos, VN = Verdaderos Negativos

del 94,3% respecto a los parámetros de eficacia (sensibilidad y especificidad) máxima de 100% que representó el método de HPLC como gold standard (Tabla 3).

Tabla 2. Grado de asociación entre métodos (HPLC y Test de Screening SNAP)

	Valor	Error estándar asintótico ^a	T aproximada ^b	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa 0,734	0,065	11,517	0,000

T = Estadístico T (Valor de Kappa/Error estándar), significación aproximada = p-valor, 0.000 = acuerdo observado es altamente significativo (muy poco probable que sea debido al azar).

Tabla 3. Grado de asociación entre métodos (HPLC y Test de Screening SNAP)

Prueba	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
HPLC (gold standard)	100	100
SNAP	89,3	94,3

Costo – efectividad del método. En la Tabla 4 se presenta los resultados del análisis costo efectividad

(ACE) adaptado para comparar pruebas diagnósticas en base a su efectividad traducida en la eficacia (% de resultados correctamente identificados) de las pruebas; la prueba de screening rápido SNAP resultó ser el método DOMINANTE, pues proporcionó la mejor relación promedio de costo - efectividad (S./VP+VN) de S/. 7,24

con respecto a la cromatografía líquida HPLC que fue el método más caro con S/.20,27 por el mismo análisis.

Tabla 4. Grado de asociación entre métodos (HPLC y Test de Screening SNAP)

Método	Costo Total (S/.)	Efectividad (VP + VN)	Relación promedio de c/e (S/.)	Resultado
HPLC	4 864,39	240	20,27	N/A

SNAP	1 629,42	225	100% que se atribuyen a la prueba de HPLC. Esto indica que el método de screening rápido es menos sensible (con una diferencia del 10,7%) y menos específico (con una diferencia de 5,7%) en comparación con la cromatografía líquida HPLC. Según Pita y Pértegas (2010), las pruebas se consideran igualmente efectivas si sus valores se encuentran en el rango de 80% a 94%. Estos resultados fueron superados por una prueba biológica de cribado desarrollada por Adabi et al. (2024), quienes demostraron que la bacteria <i>Bacillus subtilis</i> mostró una sensibilidad del 93,3% y una especificidad del 96,7%, siendo adecuada para detectar residuos de antibióticos de Tilosina (50 µg Kg ⁻¹) y oxitetraciclina (100 µg Kg ⁻¹) en leche.
------	----------	-----	---

c/e = Costo efectividad; VP = Verdaderos positivos, VN = Verdaderos Negativos

DISCUSIÓN

Detección de antibióticos en leche. La proporción de antimicrobianos identificados en este estudio, con niveles que exceden los límites máximos permitidos de residuos de antibióticos β-lactámicos en leche, fue significativamente alto. Mediante el método SNAP DUO, se identificó un 37,5% de positividad, principalmente β-lactámicos y en menor medida tetraciclinas, mientras que la técnica cromatográfica HPLC reveló un 52,5% de positividad para β-lactámicos. Estos resultados superan los reportados en estudios previos, como el de Fatemi et al. (2024) en Salta, Argentina, que encontraron un 20% de positividad utilizando una prueba cualitativa estándar; Máttar et al. (2009) en Montería, Colombia, con un 25% de muestras de leche cruda contaminadas con trazas de antibióticos; y Haseeb (2023) reportó un 26% de positividad, principalmente β-lactámicos, utilizando un kit de detección rápida. Puga-Torres et al. (2017) utilizando también un test de screening rápido, reportaron 26,93% a 71,15% de positividad en dos localidades diferentes.

En Jalisco, México, Noa-Pérez (2021), al evaluar un sistema de monitoreo de restos de antibióticos en una planta de productos lácteos durante cinco años, reportó una disminución de la positividad, que pasó de 42,11% al inicio del programa a 1,46% en el quinto año, demostrando la efectividad del control implementado. Adabi et al. (2024) reportaron 20,8% de presencia de residuos de antibióticos en leche, mientras que Patel et al. (2020) encontraron 20% y 10% de residuos de tetraciclinas y β-lactámicos, respectivamente. Salas et al. (2013) informaron un 45% de muestras positivas a antibióticos en la cuenca de Lima, y Llanos (2002) en Cajamarca encontró que el 20% de las muestras resultaron positivas a restos de antibióticos, a pesar de que provenían de mercados y tiendas, donde dichos residuos podrían haberse diluido al combinarse con leche de vacas no contaminadas.

Sachi et al. (2019), en un meta-análisis sobre esta problemática, señalan que la mayoría de los estudios reportan la presencia de β-lactámicos (penicilinas y cefalosporinas), lo que sugiere un uso creciente de estos antibióticos en la ganadería lechera. Además, los autores destacaron que el 51,34% de los investigadores utilizaron técnicas basadas en cromatografía, seguidas de métodos inmunológicos (25,89%), lo que podría indicar una preferencia creciente por técnicas cromatográficas como el HPLC, debido a su mayor sensibilidad, especificidad y capacidad de cuantificación. Sin embargo, Sachi et al. (2019) también subrayaron que las técnicas inmunológicas y microbiológicas, aunque más económicas y rápidas, siguen siendo ampliamente utilizadas.

Sensibilidad y especificidad del método. Los resultados obtenidos con la prueba de screening rápido SNAP arrojaron una sensibilidad de 89,3% y una especificidad de 94,3%, en comparación con los parámetros de eficacia (sensibilidad y especificidad) máximos de

100% que se atribuyen a la prueba de HPLC. Esto indica que el método de screening rápido es menos sensible (con una diferencia del 10,7%) y menos específico (con una diferencia de 5,7%) en comparación con la cromatografía líquida HPLC. Según Pita y Pértegas (2010), las pruebas se consideran igualmente efectivas si sus valores se encuentran en el rango de 80% a 94%. Estos resultados fueron superados por una prueba biológica de cribado desarrollada por Adabi et al. (2024), quienes demostraron que la bacteria *Bacillus subtilis* mostró una sensibilidad del 93,3% y una especificidad del 96,7%, siendo adecuada para detectar residuos de antibióticos de Tilosina (50 µg Kg⁻¹) y oxitetraciclina (100 µg Kg⁻¹) en leche.

Fejzić et al. (2014), en Bosnia y Herzegovina, compararon la eficacia de tres pruebas, incluyendo la SNAP B-lactam, que demostró ser 100% sensible; sin embargo, su especificidad fue solo del 24%, debido a la alta incidencia de falsos negativos. Lee et al. (2007) recomendaron que, además del método HPLC, se deben utilizar ensayos de distinta naturaleza que sean más prácticos, eficientes en tiempo y costo, sugiriendo ensayos microbiológicos como el método de absorción directa (DDA), el cual demostró ser 100% sensible en comparación con la prueba cromatográfica (Gómez 2023).

Beltrán et al. (2014) evaluaron cinco pruebas inmunoenzimáticas para la detección de antibióticos, encontrando que las pruebas BetaStar Combo, Charm MRL BL/TET y SNAP Betalactam presentaron especificidades del 99%, 98% y 95%, respectivamente, para la detección de β-lactámicos, similares al 94,3% obtenido en la presente investigación. Para la detección de tetraciclinas, las pruebas SNAP Tetracycline y Charm MRL BL/TET demostraron una especificidad del 100%, mientras que BetaStar Combo y Twinsensor BT presentaron una especificidad del 99% y 99,7%, respectivamente, lo que las convierte en pruebas altamente específicas para la detección de tetraciclinas en leche (Anika et al. 2019). En esta investigación, no se reportaron casos de verdaderos positivos para tetraciclinas, lo que representó una limitante para la determinación individual de la eficacia por grupos separados de antibióticos. Sin embargo, se identificaron tres falsos positivos en la detección de tetraciclinas mediante la prueba SNAP, lo que permitió determinar una especificidad cercana al 99%, aunque diferente de la obtenida con el método HPLC.

Costo – efectividad (S/. /VP+VN) del método. Los análisis de costo-efectividad (ACE) demostraron que el método de screening rápido SNAP Duo ST Plus ofrece la mejor relación promedio de costo-efectividad (S/. /VP+VN), con un valor de S/. 7,24, posicionándose como el método dominante en comparación con la cromatografía líquida HPLC, que presentó una relación promedio de costo-efectividad de S/. 20,27.

CONCLUSIÓN

Los resultados indican que el método SNAP Duo ST Plus es una alternativa eficiente y viable para el monitoreo masivo de residuos de antibióticos en leche, destacando su versatilidad para detectar β-lactámicos y tetraciclinas a un costo considerablemente menor que el HPLC. Con un costo

por muestra de S/. 7,24 frente a los S/. 20,27 del HPLC, SNAP DUO se presenta como una herramienta ideal para programas de vigilancia en cuencas lecheras, permitiendo una evaluación rápida y costo-efectiva.

El 37,5% de las muestras analizadas con SNAP DUO contenían residuos de antibióticos, mientras que el HPLC detectó residuos en el 52,5% de las muestras. La concordancia entre ambos métodos fue sustancial ($Kappa = 0,734$), con una sensibilidad del 89,3% y especificidad del 94,3% para SNAP DUO, comparado con el 100% de HPLC. Si bien el HPLC sigue siendo el método de referencia por su mayor precisión, SNAP DUO ofrece una solución rápida y económica para el monitoreo rutinario de residuos de antibióticos en la leche, contribuyendo significativamente a la mejora de la inocuidad alimentaria.

Agradecimiento. Los autores desean expresar sus agradecimientos a los financiamientos de la Universidad Nacional del Centro del Perú.

ORCID

Villar F.A. ✉ farauc@unpc.edu.pe;  <https://orcid.org/0000-0002-1768-8388>

Estremadoyro L.G. ✉ lguzman@unpc.edu.pe;  <https://orcid.org/0000-0002-3756-7516>

Payano I.U. ✉ iunchupaico@unpc.edu.pe;  <https://orcid.org/0000-0002-6441-5016>

Sanchez N.M. ✉ nmayorga@unpc.edu.pe;  <https://orcid.org/0000-0001-6157-468X>

Laurence K.A. ✉ e_2013100345h@unpc.edu.pe;  <https://orcid.org/0009-0004-5681-7105>

Mauricio-Ramos Y. ✉ ymauricio@unpc.edu.pe;  <https://orcid.org/0009-0008-1518-6238>

Carhuas J.N. ✉ jnahunanca@unpc.edu.pe;  <https://orcid.org/0000-0002-0137-0631>

REFERENCIAS

- Adabi M, Reza Faryabi M, Nili-Ahmadabadi A, Gharekhani J, Mehri F. Evaluation of tetracycline antibiotics residues in chicken tissues using the four-plate test, ELISA, and HPLC methods in Iran. *J. Environ. Anal. Chem.* 2024; 104(9): 2014-2023.
- Anika TT, Al Noman Z, Ferdous MRA, Khan SH, Mukta MA, Islam MS, Hossain MT, Rafiq K. Time dependent screening of antibiotic residues in milk of antibiotics treated cows. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2019; 6(4): 516.
- Arbo LMD, Céspedes LG, Idoyaga H, Echeverría P, Giménez Caballero E, Arias MN, Bernal SS, Ulke G, Desvars AB, Pizarro F. Detección de residuos de antibióticos y micotoxinas en leche vacuna fluida pasteurizada comercializada en Paraguay. *Rev. salud pública parag.* 2020; 10(2): 23-29.
- Bakeman R. KappaAcc: A program for assessing the adequacy of kappa. *Behav. Res. Methods.* 2023; 55(2): 633-638.
- Beltrán MC, Borrás M, Nagel O, Althaus RL, Molina MP. Validation of receptor-binding assays to detect antibiotics in goat's milk. *J. Food Prot.* 2014; 77(2): 308-313.
- Cámara M, Gallego-Picó A, Garcinuño RM, Fernández-Hernando P, Durand-Alegría JS, Sánchez PJ. An HPLC-DAD method for the simultaneous determination of nine β -lactam antibiotics in ewe milk. *Food Chem.* 2013; 141(2): 829-834.
- Carhuas JN, Capcha KB, Garcia-Olarte E, Eulogio CQ. Production performance of rejected newborn lambs fed with different concentrations of whey in Perú. *Rev. Ciênc. Agrovet.* 2024; 23(2): 231-239.
- Diego EA, Rodrigo HJ, Manuelv CV, Paul MM, Luis CPJ, Alfonso CF, Carhuas JN. Rumen kinetics of nutrient degradability of forage barley (*Hordeum vulgare* L.) with different levels of quinoa (*Chenopodium quinoa*) residues supplementation. *Vet. Integr. Sci.* 2024; 22(3): 1073-1087.
- Estremadoyro LJG, Salome PH, Carhuas JN, Guzman SO, Tacza AA, Guillen MAF, Garcia-Olarte E. Effects of Different Seasons on Milk Quality: A Study on Two Cattle Breeds in Rainy and Drought Contexts. *World's Vet. J.* 2024; 14(2): 213-219.
- Fatemi F, Alizadeh Sani M, Noori SMA, Hashemi M. Status of antibiotic residues in milk and dairy products of Iran: a systematic review and meta-analysis. *J. Environ. Health Eng.* 2024; 22(1): 31-51.
- Fejzić N, Begagić M, Šerić-Haračić S, Smajlović M. Beta lactam antibiotics residues in cow's milk: comparison of efficacy of three screening tests used in Bosnia and Herzegovina. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 2014; 14(3): 155.
- Garcia-Olarte E, Carhuas JN, Guillen MAF, Tacza AA, Ramos EER. Physicochemical composition of Criollo and Criollo x Saanen. *Online. J. Anim. Feed Res.* 2024; 14(2): 116-123.
- Getahun M, Abebe RB, Sendekie AK, Woldeyohanis AE, Kasahun AE. Evaluation of antibiotics residues in milk and meat using different analytical methods. *J. Anal. Chem.* 2023; 2023(1): 4380261.
- Gómez RJM. General technological scheme and processing parameters in cheeEEmaking. *Revista Fac. Agron.* 2023; 178-178.
- Gordillo JJT, Rodríguez VHP. Cálculo de la fiabilidad y concordancia entre codificadores de un sistema de categorías para el estudio del foro online en e-learning. *Rev. Inves. Educ.* 2009; 27(1): 89-103.
- Haseeb F. Comparative study to detect antibiotic residues in processed and raw milk in lahore. *Pak. J. Sci.* 2023; 75(04): 697-709.
- Landis JR, Koch GG. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics.* 1977; 33(1): 159-174.
- Lee JB, Chung HH, Chung YH, Lee KG. Development of an analytical protocol for detecting antibiotic residues in various foods. *Food Chem.* 2007; 105(4): 1726-1731.
- Llanos G. Determinación de residuos de antibióticos en la leche fresca que consume la población de Cajamarca, Perú. *Rev. Amazónica Inves. Alim.* 2002; 2(2): 35-43.
- Máttar S, Calderón A, Sotelo D, Sierra M, Tordecilla G. Detección de Antibióticos en Leches: Un Problema

- de Salud Pública. *Rev. Salud Pública.* 2009; 11(4), 579-590.
21. Muir JM, Radhakrishnan A, Ozer Stillman I, Sarri G. Health Equity Considerations in Cost-Effectiveness Analysis: Insights from an Umbrella Review. *Clinicoecon. Outcomes Res.* 2024; 581-596.
 22. Muteeb G, Rehman MT, Shahwan M, Aatif M. Origin of antibiotics and antibiotic resistance, and their impacts on drug development: A narrative review. *Pharmaceuticals.* 2023; 16(11): 1615.
 23. Noa-Pérez M, Ruvalcaba-Barrera S, Torres-Morán JP, Reynoso-Orozco R, Jaime-Ornelas TdJ. Control de residuos de antibióticos en leche cruda en una empresa lechera en Jalisco México: estudio retrospectivo. *E-CUCBA.* 2021 16: 01-05.
 24. Noreña AL, Alcaraz-Moreno N, Rojas J G, Rebolledo Malpica D. Applicability of the Criteria of Rigor and Ethics in Qualitative Research. *Aquichan.* 2012 12(3): 263-274.
 25. Patel NM, Kumar R, Savalia CV, Desai DN, Kalyani IH. Dietary exposure and risk assessment of antibiotics residues in marketed bovine raw milk. *J. Entomol. Zool. Stud.* 2020; 8(4): 1823-1827.
 26. Perreten V, Giampà N, Schuler-Schmid U, Teuber M. Antibiotic Resistance Genes in Coagulase-negative Staphylococci Isolated from Food. *Syst. Appl. Microbiol.* 1998; 21(1): 113-120.
 27. Pita FS, Pértegas DS. Metodología investigación: Pruebas diagnósticas: Sensibilidad y especificidad [ACADEMICA]. 2010. Disponible en: www.fisterra.com. <https://www.fisterra.com/formacion/metodologia-investigacion/pruebas-diagnosticas-sensibilidad-especificidad/> Último Acceso: 20/08/24.
 28. Pitino MA, O'Connor DL, McGeer AJ, Unger S. The impact of thermal pasteurization on viral load and detectable live viruses in human milk and other matrices: a rapid review. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2021; 46(1): 10-26.
 29. Puga-Torres B, Aragón E, Contreras A, Escobar D, Guevara K, Herrera L, López N, Luje D, Martínez M, Sánchez L, Tapia D, Villareal T, Núñez L. Analysis of quality and antibiotic residues in raw milk marketed informally in the Province of Pichincha–Ecuador. *Food Agric. Immunol.* 2023; 35(1): 2291321.
 30. Rajia S, Fujii Y, Kawsar SM, Ozeki Y, Jahan S, Hasan I. Effectiveness of Microbiological Assays as an Alternative Method to Determine the Potency of Antibiotics: A Review. *Hacet. University J. Fac. Pharmacy.* 2024; 44(2): 153-164.
 31. Redwan HA, Sarker M, Das R, Azad MAK, Hasan MM. A review on antibiotic residue in foodstuffs from animal source: global health risk and alternatives. *J. Environ. Anal. Chem.* 2023; 103(16): 3704-3721.
 32. Sachi S, Ferdous J, Sikder MH, Azizul Karim Hussani SM. Antibiotic residues in milk: Past, present, and future. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2019; 6(3): 315-332.
 33. Salas PZ, Calle SE, Falcón TN, Pinto JC, Espinoza BJ. Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos mediante un ensayo inmunoenzimático en leche de vacas tratadas contra mastitis. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 2013; 24(2): 252-255.
 34. Samanidou V, Nisyriou S. Multi-residue methods for confirmatory determination of antibiotics in milk. *J. Sep. Science.* 2008; 31: 2068-2090.
 35. Subbiah V. The next generation of evidence-based medicine. *Nat. Med.* 2023; 29(1): 49-58.
 36. Talero-Pérez YV, Medina OJ, Roza-Núñez W. Técnicas analíticas contemporáneas para la identificación de residuos de sulfonamidas, quinolonas y cloranfenicol. *Un. Scientiarum.* 2014; (1): 11-29.