

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



“Residuos de ivermectina en tejido hepático de alpacas (*Vicugna pacos*), sacrificadas en un camal de la provincia de Caylloma, Arequipa – Perú, año 2019”

**Tesis para optar el Título Profesional de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Efrain Cardenas Mendoza
Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**Lima – Perú
2020**

Dedicado a mi familia por sus sabios consejos y constante motivación.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a Dios por estar conmigo en todo momento y guiarme por el camino correcto.

A mi padre y madre por ser los principales promotores en el logro de este objetivo.

Agradezco de forma especial a mi asesor de tesis el Dr. Néstor Falcón Pérez por su orientación, paciencia y apoyo incondicional, por él llegue a concluir este trabajo.

A mis jurados, Dr. Carlos Shiva Ramayoni y Dra. Clarisa Hinostroza Meza por su asesoría constante.

Al Sr. Carlos San Bartolome por proporcionar el kit de ELISA y reactivos, indispensables para el desarrollo del proyecto.

A Yurgen Peña y Edwin Hanco, por el apoyo con la movilidad y alojamiento durante la toma de muestras en la ciudad de Arequipa.

A la Srta. Inés por su colaboración durante el procesamiento y análisis de muestras en el Laboratorio de Nutrición e Inocuidad Alimentaria.

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the presence of ivermectin residues in the liver tissue of sacrificed alpacas in a camal in the province of Caylloma, Arequipa - Peru. The investigation was of a descriptive transversal type. Between July and August 2019, 50 liver samples were collected and sent to the Laboratory of Animal Nutrition and Food Safety of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of the Universidad Peruana Cayetano Heredia for evaluation using a commercial competitive ELISA kit. At the same time, information was collected regarding the origin, age, sex and breed of the animals sampled. It was obtained that 10% (5/50) of livers evaluated were positive for ivermectin residues with levels ranging from 17.28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to 79.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, values that were above the Maximum Residue Limit established by Codex Alimentarius. Of these, 9.4% (3/32) belonged to Challhuanca Village and 11.1% (2/18) to Annex Tocra. Positive livers were also found in the different age groups, sexes and races under study. The results found suggest the need to implement residue control strategies at the slaughterhouse level in order to improve food safety conditions for human consumption.

Keywords: ELISA, antiparasitic, avermectins, liver

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la presencia de residuos de ivermectina en tejido hepático de alpacas sacrificadas en un camal de la provincia de Caylloma, Arequipa – Perú. La investigación fue de tipo transversal descriptiva. Entre julio y agosto de 2019 se recolectaron 50 muestras de hígado, los cuales fueron enviados al Laboratorio de Nutrición Animal y Seguridad Alimentaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia para su evaluación mediante un kit comercial de ELISA competitivo. Paralelamente se recopiló información respecto a la procedencia, edad, sexo y raza de los animales muestreados. Se obtuvo que el 10% (5/50) de hígados evaluados dieron positivo para residuos de ivermectina con niveles que oscilaban entre 17.28 µg/kg a 79.10 µg/kg, valores que estuvieron por encima del Límite Máximo de Residuos establecido por Codex Alimentarius. De ellos el 9.4% (3/32) pertenecieron al Centro Poblado de Challhuanca y el 11.1% (2/18) al anexo Tocra. Asimismo, se encontraron hígados positivos en los diferentes grupos etáreos, sexos y razas en estudio. Los resultados encontrados sugieren la necesidad de implementar estrategias de control de residuos a nivel de los mataderos en busca de mejorar las condiciones de inocuidad de los alimentos destinados a consumo humano.

Palabras clave: ELISA, antiparasitario, avermectinas, hígado

INTRODUCCIÓN

La crianza de camélidos sudamericanos domésticos (alpaca y llama) constituye la principal fuente de subsistencia para un vasto sector de la población altoandina mediante el aporte de fibra y carne, estimándose que alrededor del 75% de ingresos anuales de 150.000 familias en situaciones de pobreza y pobreza extrema dependen directamente de esta actividad (Fernández-Baca, 2005; De los Ríos, 2010).

El Centro Poblado de Challhuanca perteneciente al distrito Yanque, provincia de Caylloma, se encuentra ubicado a 150 km de la ciudad de Arequipa entre los 4345 a 4500 msnm, presentando características ambientales de la ecorregión puna seca. Esta localidad cuenta con una población de 612 habitantes, de ellos el 90% se dedican exclusivamente a la crianza, comercialización de carne y fibra de alpacas, equivalente a 25319 cabezas de ganado (INEI, 2012; Condori y Ccorimanya 2018).

Los camélidos a lo largo de su evolución han desarrollado mecanismos biológicos, morfológicos y de comportamiento para tolerar las condiciones adversas de las alturas (Monge y León-Velarde, 1991). No obstante, las enfermedades parasitarias es uno de los factores que limita el desarrollo de la producción alpaquera, siendo la sarna más importante después de parasitosis gastrointestinal y se atribuye el 95% de pérdidas económicas causadas por ectoparásitos que superan los US\$ 300.000 anuales (Casas E, Casas G y Chávez, 2006).

Ante ello los productores utilizan fármacos a base de ivermectina (IVM) como método preventivo o tratamiento por su efectividad contra nematodos y ectoparásitos (Fernández-Baca, 2005; Condemayta, Tapia y Apaza, 2014). La ivermectina se introdujo al Perú en el año de 1983 reemplazando a los piretroides sintéticos y fosforados, desde

entonces se ha usado extensamente en la producción pecuaria a concentraciones de 1%, 1.5% y 3.15% con dosis equivalentes a 1 ml/50 kg de peso vivo (Sumano y Ocampo, 2006).

Respecto a la farmacología de esta droga se han desarrollado numerosos estudios, pudiendo ser administrado por vía oral (VO), intramuscular (IM) o subcutánea (SC) dependiendo de la especie. La aplicación SC de ivermectina se traduce en su lenta absorción, pero mayor biodisponibilidad en plasma, acción prolongada de la actividad antiparasitaria y mejor eficacia, en comparación con la VO (González et al., 2009).

Una de las características de la ivermectina es la lipofilia que le permite un amplio volumen de distribución en todas las especies, debido a que más del 90% se une efectivamente a la albúmina y lipoproteína plasmática de especímenes sanos. Cabe mencionar que los niveles más altos del fármaco son encontrados en grasa e hígado que actúan como reservorios, y el más bajo en tejido cerebral (Rohrer y Evans, 1990; Chiu et al., 1990; Moreno et al., 2008).

Los estudios sobre el metabolismo de las lactonas macrocíclicas son escasos, pero se cree que son ampliamente metabolizadas por el complejo citocromo P-450 de los microsomas hepáticos (Chiu et al., 1986; González et al., 2008). En referencia a la excreción, se sabe que el 98% de la dosis administrada se elimina mediante las heces junto con la bilis, menor al 2% en la orina y también es excretada por la glándula mamaria en hembras lactantes (Laffont et al., 2002).

El mecanismo de acción de la IVM se basa en la unión selectiva a los receptores del neurotransmisor ácido gamma aminobutírico (GABA) que regula los canales de cloro a nivel de las terminaciones nerviosas del parásito. La liberación masiva de GABA inducido por la ivermectina abre los canales de cloro permitiendo su entrada, lo que genera el efecto

inhibitorio a través de la hiperpolarización de la membrana y muerte del parásito por parálisis flácida (Turner y Schaeffer, 1989; Dent, Davis, Avery, 1997).

En la actualidad, la ivermectina se usa de manera indiscriminada en la producción animal, lo que incrementa potencialmente el riesgo de generar residuos en los alimentos de consumo humano y agravar el problema de la resistencia parasitaria (Traverso, 2011). Además de ello, la excreción fecal de esta droga produce daños ecológicos irreversibles por la muerte de insectos coprófagos, alterando la degradación del estiércol y reciclaje de nutrientes (Lumaret y Errouissi, 2002).

En relación a los efectos adversos de la IVM en los mamíferos, algunos autores manifiestan que no atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica (BHE) por la presencia de glicoproteína p (P-gp), otorgándole amplio margen de seguridad (Victoria, 2010; Burg et al., 1979; Campbell et al., 1983). No obstante, ante la mutación del gen de resistencia a multidrogas (MDR1) puede causar intoxicaciones agudas graves, tal como se ha reportado en perros, cabras y caballos (Hopper, Aldrich y Haskins, 2002; Abdou y Sharkawy, 2004; Swor, Whittenburg y Chaffin, 2009).

Algunas razas de perros como el collie, pastor australiano, border collie, pastor Shetland y sus cruces son sensibles a las avermectinas, debido al defecto de la P-gp en la BHE por un gen autosómico recesivo (Mealey, Bentjen y Waiting, 2002). La droga alcanza concentraciones elevadas hasta con dosis bajas generando signos de neurotoxicidad como letargia, sialorrea, ataxia, ceguera, convulsiones y coma, que progresa al óbito si no se atiende oportunamente (Mealey et al., 2001). Asimismo, en estudios experimentales con ratas se evidenció la mayor susceptibilidad de los neonatos hasta los 10 días de edad a la acción tóxica de la ivermectina (Paul y Abjean, 1993).

Episodios similares con signos de mareos, dolor de cabeza, mialgia, hipotensión, coma, insuficiencia respiratoria e incluso la muerte fueron observadas en humanos de África occidental, donde emplearon la ivermectina como tratamiento de la estrogiloidiasis (*Strongyloides stercoralis*) y oncocercosis (*Onchocerca volvulus*) (Gardon et al., 1997; Boussinesq et al., 2003). Dichos efectos neurológicos graves se han atribuido al polimorfismo del gen *mdr-1*, infección concomitante con *Loa Loa* y el efecto de procesos febriles (Boussinesq, 2006; Pérez et al., 2006; Macdonald y Gledhill, 2007; Chandler, 2018; Merck & Co, 2018).

Los estudios *in vitro* también demuestran la citotoxicidad mediada por la ivermectina, como el caso de las células del riñón porcino (IB-RS-2) sometidas a diferentes concentraciones del fármaco con la consecuente reducción de la síntesis proteica, recuento celular e incremento de apoptosis (Rodrigues y Mattei, 1988). Asimismo, la ruptura del ADN en células de hámster (CHO-K1) y micronúcleos en linfocitos de búfalo son pruebas de su genotoxicidad (El-makawy & Mahrous, 2008; Molinari, 2010).

Existen reportes de paladar hendido en conejos cuando las madres fueron expuestas a dosis altas (Merck & Co, 1980); en otro estudio evaluaron los efectos citogenéticos y teratogénicos de la ivermectina y de la combinación de ésta con verapamil en ratas, no encontrándose alteraciones en el desarrollo fetal. Sin embargo, se observó reducción en el índice mitótico e incremento de estructuras cromosómicas aberrantes en células de la médula ósea materna (el-Ashmawy et al., 2011).

Debido a sus efectos negativos, la ivermectina es considerada como una sustancia peligrosa para la salud de los consumidores por lo que se estableció el Límite Máximo de Residuos (LMR) en diferentes matrices y especies, siendo 15 µg/kg para hígado de ruminantes menores (FAO y WHO, 2014; Codex Alimentarius, 2015). En la última sesión que se llevó a cabo en 2018 se incluyeron LMR en riñón y músculo con la finalidad de

garantizar el control de residuos, particularmente cuando no hay tejidos distintos a estos para el muestreo (Codex Alimentarius, 2018).

En referencia a los residuos de ivermectina en los alimentos, se han encontrado niveles eminentes en tejido muscular, riñón e hígado de bovinos y cerdos, siendo estables a la acción térmica (Rose, Farrington y Shearer, 1998). En Nicaragua se determinó que de 10.942 reses sacrificados, el 4.38% (480) presentaban residuos por encima del LMR (10 ppb) en el tejido muscular, lo que generó \$238,308.5 en pérdidas económicas para los productores y \$49,920 para las industrias procesadoras (Pérez y Torres, 2013).

En otro estudio se cuantificó los niveles de ivermectina en hígado de bovinos mediante las técnicas de ELISA y Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) con detección fluorescente, donde el 9.09% (8/88) de muestras contenían residuos mayores al LMR, asimismo se obtuvo un límite de detección de 4ng/g y 2 ng/g respectivamente para las pruebas empleadas (Davoodi, Norian y Jalilvand, 2017).

En Brasil durante los años 2010 y 2011 se determinó que 1,54% (3/195) y 1,99% (6/301) de muestras de hígado bovino presentaban residuos por encima de LMR en cada año de estudio, respectivamente, mientras que en matriz músculo la frecuencia de infracción fue nula (MAPA, 2011a y 2012b). Para el año 2012 estos valores se vieron incrementados a 2,56% (4/156) y 0.65% (2/309) tanto en hígado como en músculo, lo que demuestra el agravamiento del problema en dicho país (MAPA, 2013).

En referencia a la detección de ivermectina en los alimentos, la técnica más común es la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) acoplado a espectrometría de masas, detección fluorescencia o absorbancia en el ultravioleta que se caracterizan por su rapidez, alta sensibilidad y automatización, sin embargo, requieren de una inversión elevada y personal con amplia experiencia para su funcionamiento (Danaher et al., 2006).

Mientras que el Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA) es mucho más económico y sencillo, que permite cuantificar residuos que se correlacionan estrechamente con las determinadas por HPLC ($r = 0.99$) (Shi et al., 2006; Lailany et al., 2016). La sensibilidad (límite de detección) para muestras de hígado es de 10 ng/g y presenta una reactividad cruzada de hasta 100% únicamente con las avermectinas (emamectin, abamectin y eprinomectin) por la similitud en su estructura molecular (Crooks et al., 1998; Mitsui et al., 1996).

En este contexto, el 90% de habitantes del Centro Poblado Challhuanca y anexos aledaños se dedican netamente a la crianza de alpacas, siendo considerada la principal fuente de proteína en la alimentación diaria y que el uso de antiparasitarios es una práctica común por los productores. Por ello el objetivo del estudio fue determinar la presencia de residuos de ivermectina en tejido hepático de alpacas sacrificadas en un camal de la provincia de Caylloma, Arequipa – Perú en el año 2019.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Nutrición Animal e Inocuidad Alimentaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Las muestras de hígado fueron recolectadas en un camal de camélidos sudamericanos ubicado en el Centro Poblado Challhuanca, provincia Caylloma del departamento de Arequipa.

2. Tipo de estudio

El estudio corresponde a una investigación transversal, descriptiva.

3. Población objetivo y tamaño de muestra

La población objetivo fueron los hígados de alpacas sacrificadas en el camal del Centro Poblado Challhuanca del distrito Yanque, provincia de Caylloma, Arequipa. El tamaño de muestra se determinó utilizando el programa WinEpi (Working in Epidemiology) mediante la fórmula de prevalencia límite con un tamaño de población $N=25319$ (INEI, 2012). Se trabajó con una prevalencia mínima de detección del 5.97% (Barbieri, 2014) y nivel de confianza del 95%, obteniendo un resultado de $n=49$. Sin embargo, para el estudio se recolectaron y analizaron 50 muestras.

4. Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron a las alpacas independientemente de su procedencia que correspondían al conteo múltiplos de 5 (1 de cada 5 animales) de acuerdo al orden de ingreso al matadero y con hígados macroscópicamente saludables de color marrón rojizo. Se excluyó a otras especies sacrificadas en el camal (ovino, llama), asimismo los hígados con quistes parasitarios, granulomas o necrosados fueron descartados y se procedió a muestrear al animal contiguo.

5. Elaboración y validación de instrumentos

Para recolectar la información de los animales, se elaboró una ficha informativa con las siguientes variables: lugar de procedencia de las alpacas (Challhuanca, Tocra); edad (< 2 años = diente de leche, entre 2-3 años = dos dientes, 3-4 años = cuatro dientes, > 4 años = boca llena); sexo (macho o hembra) y raza (huacaya o suri).

La cuantificación de residuos se realizó mediante un kit comercial de ELISA (MaxSignal® Avermectin #1073-01B), siguiendo estrictamente las indicaciones del fabricante PerkinElmer Company. Esta herramienta ha sido validado previamente por otros estudios para evaluar residuos de ivermectina en muestras de hígado y cuenta con los siguientes controles: negativo, 0.5ng/ml, 1ng/ml, 2ng/ml, 4ng/ml y 8 ng/ml (Bioo Scientific Corporation, 2014).

6. Colección de muestras

La recolección de muestras de hígado fue de manera aleatoria teniendo en cuenta 1 de cada 5 animales por cada lote conforme al orden de llegada al matadero durante el periodo julio – agosto del año 2019 (temporada de saca), en casos de que el hígado seleccionado no cumplía con el criterio de inclusión se eligió el siguiente animal después del último conteo. Una vez ubicado las vísceras en la carcasa se procedió a cortar aproximadamente 100 gramos de lóbulo derecho del hígado utilizando hojas de bisturí estériles nº 21, estos fueron colocados en bolsas Nasco Whirl-Pak® debidamente rotulados y luego almacenados entre -10 a -17 °C.

Paralelamente se recopiló la siguiente información situacional de los rebaños muestreados: el lugar de procedencia que fue proporcionado por el propietario, la edad de cada animal se estimó mediante el conteo dentario, el sexo a través de la observación directa de los genitales y la raza mediante las características fenotípicas del vellón.

7. Procesamiento de muestras

Las muestras de hígado fueron transportadas a la ciudad de Lima por vía terrestre dentro de una nevera portátil con gel refrigerante congelado y posteriormente enviadas al Laboratorio de Nutrición animal e Inocuidad Alimentaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia para su respectivo procesamiento y análisis.

Las muestras de hígado fueron analizadas mediante la técnica de ELISA indirecta, para lo cual se empleó el producto MaxSignal® Avermectin ELISA Test Kit #1073-01B siguiendo las orientaciones del fabricante.

7.1. Técnica de ELISA

El método se basa en un ensayo competitivo, donde el fármaco de interés (ivermectina) está recubierto en los pocillos de la placa. Durante el análisis, la ivermectina presente en la muestra y el fármaco recubierto compiten por el anticuerpo primario luego de ser añadidas a la placa. En seguida el anticuerpo secundario marcado con una enzima peroxidasa, se dirige al complejo anticuerpo primario-fármaco recubierto. La intensidad de color resultante después de la adición del sustrato, tiene una relación inversa con la concentración de ivermectina en la muestra (Bio Scientific Corporation, 2014).

7.1.1. Preparación de muestras

- Las muestras de hígado fueron homogenizadas individualmente moliendo en un mortero de porcelana.
- Luego se procedió a pesar 2 gramos de cada muestra y transferir a tubos Falcon de 12 ml.
- En seguida se agregó 6 ml de acetonitrilo grado HPLC y 2,5 ml de tampón de equilibrio avermectina 1X.
- Se agitó en el vórtex durante 3 minutos a velocidad máxima, luego se agregó 200 µl de tampón de extracción y se volvió a agitar por 1 minuto.

- Posteriormente se centrifugó a 8960 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C), se transfirió 200 µl del sobrenadante a tubos eppendorf de 1.5 ml y la muestra se secó soplando con nitrógeno gaseoso en baño María de 50 °C.
- Finalmente se añadió 1 ml de 35% etanol/tampón de extracción muestras y se agitó en el vórtex durante 1 minuto.

7.1.2. Procedimiento de ELISA

- Se agregó 50 µl de cada estándar a la placa en el orden de baja a alta concentración y se repitió el mismo procedimiento para las muestras de hígado.
- En seguida se añadió 100 µl el anticuerpo #1 a cada pocillo, se mezcló balanceando suavemente la placa durante 1 minuto y se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C).
- Se desechó completamente la solución de los pocillos, se lavó 3 veces con 250 µl de solución lavado 1X y se invirtió la placa para golpear sobre el papel toalla con el objetivo de secar.
- A continuación se agregó 150 µl del anticuerpo conjugado #2 y se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente.
- Se procedió a lavar la placa 3 veces con la solución de lavado 1X y se secó golpeándola sobre el papel toalla.
- Posterior a ello se agregó 100 µl del sustrato TMB, se mezcló balanceando la placa por 1 minuto y se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente.
- Finalmente se agregó 100 µl de la solución Stop para detener la reacción enzimática e inmediatamente se leyó con un lector de placas de 450 nm.

7.1.3. Cálculo de concentración de ivermectina

La cuantificación de residuos de ivermectina fue en base a los valores la Absorbancia Relativa (%) y concentración de los estándares, con los cuales se elaboró una curva de calibración en Microsoft Excel 2013 que permitió obtener una ecuación logarítmica (Figura 1- Anexo).

8. Análisis estadístico

Los resultados del estudio fueron resumidos mediante estadística descriptiva en el programa Microsoft Excel, donde se utilizaron cuadros estadísticos para presentar los valores absolutos y relativos. Asimismo se evaluó la asociación de las variables (raza, sexo, edad, lugar de procedencia) con la presencia de residuos mediante la prueba exacta de Fisher en el software estadístico IBM SPSS.

9. Comité de ética

El estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética para el uso de animales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia mediante la constancia N° 072-08-09.

RESULTADOS

Se elaboró una curva de calibración representando la absorbancia relativa y concentración de los estándares (Figura 1 - Anexo). A partir del cual se obtuvo la ecuación logarítmica con un coeficiente de determinación $R^2=0.995$, donde la incógnita “y” fue reemplaza con los valores de absorbancia relativa de cada muestra y multiplicado por 20 (factor de dilución) para obtener su respectiva concentración de ivermectina, dichos resultados fueron corroborados mediante el programa MaxSignal® ELISA Analysis Programme suministrado por el fabricante (Tabla 1 - Anexo).

En el análisis inmunoenzimático utilizando la técnica de ELISA se determinó que el 10% (5/50) del total de muestras evaluadas resultaron positivas para residuos del antiparasitario ivermectina con concentraciones que varían desde 17.28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hasta 79.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Los hallazgos superan el LMR establecidos por Codex Alimentarius para tejido hepático de alpacas que es 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$. El detalle de los resultados se presenta en la Figura 2, sección Anexos.

Teniendo en cuenta la variable procedencia, se determinó que el mayor porcentaje de alpacas provenían del Centro Poblado de Challhuanca correspondiente a 64% (32) y el 36% (18) del anexo Tocra (Cuadro 1), de los cuales el 9.4% (3) y 11.1% (2) presentaban residuos de ivermectina, respectivamente, como se puede apreciar en el Cuadro 2. A pesar de ello, no se encontró diferencia estadística significativa entre ellas ($p=0.599$).

Respecto al grupo etario se encontró que el 58% (29) de animales tenían la edad superior a 4 años donde el 6.9% (2) resultaron positivos a residuos con niveles no aceptables para el consumo humano, mientras que se detectó un animal positivo en cada una de las otras tres categorías. La información detallada sobre residuos de ivermectina según la edad de las alpacas se presenta en el Cuadro 2.

En relación a la variable sexo, se observó que proporcionalmente se sacrificaron mayor número de alpacas hembras en comparación a los machos (Cuadro 1), asimismo el 8.8% (3) y 12.5% (2) respectivamente, tenían restos de ivermectina en muestras de hígados, tal como se muestra en el Cuadro 2. Sin embargo, no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p=0.180$).

Finalmente en referencia a la variable raza, se constató que el 76% (38) de alpacas sacrificadas eran de la variedad huacaya con 10.5% (4) de animales con residuos de ivermectina que supera los niveles permitidos, en comparación con 8.33% (1/12) encontrado en la raza suri (Cuadro 2). Aunque, no se encontró diferencia estadística significativa ($p=0.655$).

Cuadro 1.- Distribución proporcional de las características demográficas de las alpacas participantes en el estudio. Provincia de Caylloma, departamento de Arequipa – Perú, 2019 (n=50).

Variable	Nro.	%
Lugar de procedencia		
Challhuanca	32	64
Tocra	18	36
Grupo etáreo (años)		
< 2	4	8
2 - 3	6	12
3 - 4	11	22
> 4	29	58
Sexo		
Macho	16	32
Hembra	34	68
Raza		
Huacaya	38	76
Suri	12	24

Cuadro 2. .- Frecuencia de resultados positivos a residuos de ivermectina en hígado de alpaca distribuidos según variables de estudio. Provincia de Caylloma, departamento de Arequipa – Perú, 2019 (n=50).

Variable	Total de muestras	Muestras positivas	
		Nro.	%
Lugar de procedencia			
Challhuanca	32	3	9.4
Tocra	18	2	11.1
Grupo etáreo (años)			
< 2	4	1	25.0
2 - 3	6	1	16.7
3 - 4	11	1	9.1
> 4	29	2	6.9
Sexo			
Macho	16	2	12.5
Hembra	34	3	8.8
Raza			
Huacaya	38	4	10.5
Suri	12	1	8.3
Total	50	5	10.0

DISCUSIÓN

El estudio fue desarrollado en el Centro Poblado de Challhuanca, debido a que representa un modelo sobre la realidad de muchas poblaciones altoandinas del Perú, donde la principal actividad económica es la crianza alpacas. Se cree que esta localidad reúne diversos factores que podrían favorecer la presencia de residuos de IVM como la limitada asistencia de servicio veterinario, uso de antiparasitarios de larga acción, la falta de registros de animales tratados, entre otros. Tal como afirma CAPV (2016), el uso inadecuado de fármacos en animales de abasto sin respetar las Buenas Prácticas Pecuarias (BPP) conlleva a la acumulación de residuos en los alimentos.

Se encontró que el 10% (5/50) de hígados de alpacas presentaban residuos de IVM que sobrepasa los LMR establecidos por Codex Alimentarius correspondiente a 15µg/kg. Esta frecuencia es relativamente mayor a lo reportado en Brasil con 5.97% (4,602/77,056) y 1.41% (1,153/81,565) para hígados y músculos de bovinos, respectivamente (Barbieri, 2014). De la misma forma, un estudio realizado por Lailany et al., (2016), en Colombia encontró que solo el 2% (1/50) de hígados tenían residuos por encima de los niveles permisibles. Mientras que en México, se obtuvieron resultados aún más bajos con 0.43% (1/234) en comparación al presente estudio (Solis et al., 2011). La diferencia se podría atribuir al uso de IVM de larga acción, el incumplimiento del periodo de retiro y la ausencia de normas que regulen el uso de lactonas macrocíclicas en el Perú, mientras que en otros países de Latinoamérica este grupo de fármacos forman parte del Plan Nacional para el Control de Residuos y Contaminantes en alimentos de origen animal (MAPA, 2010; MinSalud, 2013; SENASICA, 2020).

La frecuencia de residuos de IVM en hígados de alpacas fue mayor a las encontradas en tejido muscular de bovinos en Nicaragua, donde el 4.38% (480/10,942) y 0.10% (39/38,143) de muestras evaluadas por Pérez y Torres, (2013) y Arauz, (2016), respectivamente, presentaban

residuos superiores al LMR de 10 µg/kg. Sin embargo, la frecuencia puntual fue menor a lo reportado en Costa Rica con un 33.3% (2/6) en ganado bovino importados de Panamá (SENASA CR, 2012). La menor casuística de residuos en Nicaragua podría estar asociado al uso responsable de medicamentos por contar con una normativa vigente que así lo exige, la prohibición de IVM de larga acción y la baja afinidad del fármaco por el músculo a diferencia del hígado (Chiu et al., 1990; Mora et al., 2010; Álvarez, 2014).

También se han reportado residuos de IVM en productos lácteos. Al respecto, Pérez et al., (2006) encontraron que el 8,3% (2/24) de muestras de leche provenientes de tanques en Chile presentaron niveles superiores al límite de cuantificación 0,043 ng/ml. Asimismo, la Corporación Colombiana de Investigaciones Agropecuarias analizó 180 muestras, de ello el 3.33% (6/180) presentó residuos de IVM, pero ninguno superó el LMR de 10 ppb (CORPOICA, s.f.). En la literatura citada no hubo infracciones en el nivel de residuos a diferencia del presente estudio, lo que podría estar relacionado al hecho de que cada país posee normativa vigente para el monitoreo de la ivermectina, además que su uso está totalmente prohibido en animales de lactancia debido a que al menos 5% de la dosis se elimina en la leche (Alvinerei et al., 1994; MinSalud, 2013; MINSAL, 2019).

Considerando la procedencia de los individuos muestreados, en este estudio no se observó diferencia significativa en el porcentaje de alpacas con residuos de ivermectina entre los anexos Tocra y Centro Poblado Challhuanca. Esto discrepa con los resultados de Arauz (2016) en Nicaragua, donde el departamento de Managua presentó la recurrencia más alta con 35.89% asociado al acopio de ganado de otras regiones del país. En otro estudio realizado en Brasil también se obtuvo diferencias, siendo el estado de Minas Gerais con 11,44% de residuos que superas el LMR (Barbieri, 2014). Al respecto, Crawford (1985), menciona que la mayor prevalencia de residuos en algunas regiones se debe al uso excesivo de medicamentos veterinarios

por la intensificación de los sistemas de producción, infringir el periodo de retiro, falta de registro de animales tratados y el desconocimiento de los daños sobre la salud.

En cuanto a la edad, no se evidenció diferencia significativa entre los grupos etáreos a pesar de que el 58% (29) de alpacas tenían más de 4 años. Este resultado coincide a lo hallado por Barbieri (2014) en la especie bovina, donde la clase denominada adulta presentaba un alto índice de detección con 5,75% encima del LMR que son similares a los valores de la clase novilla de producción pecuaria con 5,08%, no habiendo diferencia estadística significativa. En referencia a lo anterior, Beltrán et al. (2014) encontró que la infestación por ectoparásitos en alpacas era similar en todas las edades, además de que la IVM se usa preventivamente en todo el rebaño independientemente del estrato etáreo.

En referencia a las variables Sexo y Raza de las alpacas, no estuvieron asociados con la presencia de residuos de IVM. Caso contrario fue lo que se determinó en un trabajo desarrollado en bovinos en Brasil, donde la categoría macho entero presentó mayor frecuencia de residuos con 8,06% de casos encima del LMR (Barbieri, 2014). Los resultados del trabajo previamente citado se atribuyeron al lugar de procedencia de los toros de un sistema de confinamiento, donde existe un mejor control sanitario como el uso de antiparasitarios y por ende mayor riesgo de residuos en los derivados cárnicos.

Los antiparasitarios como la IVM desempeñan un papel crucial en la producción pecuaria sostenible y en garantizar la seguridad alimentaria ante la creciente demanda de alimentos de origen animal, sin embargo, el uso indiscriminado podría generar residuos en los alimentos, generar desequilibrios en el ecosistema y favorecer la resistencia de los parásitos (Márquez, 2008; IFAH-Europe, 2015). En referencia al último punto, Traverso (2011), determinó que el 43.33% (26/60) de alpacas presentaban parásitos gastrointestinales con moderada a alta resistencia a la IVM en Puno, lo que explicaría del por qué se repite el tratamiento a los 15 días incumpliendo las indicaciones escritas en la etiqueta del producto.

Los impactos negativos de la ivermectina han hecho que las organizaciones internacionales y entidades de salud nacional regulen con fundamento científico los residuos de fármacos potencialmente peligrosos (Vaca, 2003). Al respecto, en el Perú existe la Norma Técnica Sanitaria que establece los LMR de medicamentos veterinarios en alimentos de consumo humano (NTS N°120-MINSA/DIGESA-V.01), que está basada en la normativa del Codex Alimentarius (MINSA, 2016). Según este documento, se han establecido LMR para los antibióticos, promotores de crecimiento, algunos antiparasitarios e insecticidas, pero las avermectinas no están incluidas a pesar del uso extendido en diversas especies productivas.

Por ello la necesidad de realizar estudios que sirvan como evidencia científica para implementar un programa de vigilancia sanitaria en búsqueda de mejorar la inocuidad de los alimentos (CAPV, 2016). Carmona y Vindas (2013), refieren que este programa debe ir junto con la capacitación de los productores y personal sanitario en temas relacionados a las Buenas Practicas Ganaderas. La efectividad de estas medidas se podría constatar en Nicaragua, donde la frecuencia de residuos por encima de LMR se redujo de 4.38% (480/10,962) a 0.10% (39/38,143) luego de su implementación (Pérez y Torres, 2013; Arauz, 2016).

Por lo tanto, los niveles residuales de ivermectina encontrados en alpacas representan un aspecto que debe ser considerado por el Ministerio de Salud y el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) desde el punto de vista de la salud pública, especialmente cuando los residuos superan en gran medida los LMR establecidos por Codex Alimentarius. Por su parte, la Municipalidad del Centro Poblado Challhuanca debería capacitar a los alpaqueros sobre el uso apropiado de medicamentos y de ser posible brindar un servicio veterinario permanente responsable de la sanidad y asesoramiento de los productores.

Entre las limitaciones del estudio se debe mencionar que la recolección de muestras se llevó a cabo entre julio y agosto, mientras que el pico en el uso de ivermectina teóricamente se da

en mayo y noviembre, ante esta premisa los resultados obtenidos podrían subestimar la prevalencia real de residuos en los otros meses. Además, la escasa disponibilidad de estudios sobre el tema en el contexto nacional nos obligó basarnos en la literatura internacional para discutir los resultados. Por otro lado, el kit de ELISA presenta alta reactividad cruzada con otras lactonas macrocíclicas lo que podrían haber influido en los resultados, pero son de igual importancia en la salud pública.

En conclusión, el estudio logró cuantificar los residuos de ivermectina en tejido hepático de alpacas en el camal del Centro Poblado de Challhuanca. Los resultados ofrecen una línea de base para desarrollar futuras investigaciones que generen evidencias sobre el estado sanitario de los productos de origen animal en el Perú. La prevención y control del problema comienza con la implementación de un sistema de vigilancia, para lo cual las avermectinas deberían ser incluidas en la Norma Sanitaria NTS N°120-MINSA/DIGESA-V.01 y de manera simultánea capacitar en temas relacionados a buenas prácticas pecuarias con fines de garantizar la inocuidad en la cadena productiva de camélidos sudamericanos en el país.

CONCLUSIONES

- Se determinó que sí existe presencia de residuos de ivermectina en hígado de alpacas sacrificadas en el camal del Centro Poblado de Challhuanca.
- El 10% de muestras evaluadas presentaban niveles de ivermectina que supera los Límites Máximos de Residuos establecidos por Codex Alimentarius.
- Las variables involucradas en el estudio no estuvieron asociados con la presencia de residuos de ivermectina.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdou, A., Sharkawy, A. (2004). Some toxicological studies on ivermectin in goats. In Proceeding of the 20 Annual meeting of the Egyptian Society of toxicology. Egypt: Bibliotheca Alexandria University. 32pp.
- Álvarez, V. (2014). ¿Se replantea el uso de las ivermectinas en América Latina?. *Parasitología*, 15(2), 1-2 [internet]. [Acceso 23 marzo 2020]. Disponible en: <http://www.senasa.go.cr/senasa/sitio/files/081014092445.pdf>
- Alvinerie, M., Sutra, J. F., Galtier, P., & Toutain, P. L. (1994). Microdose d'ivermectine chez la vache laitiere: concentrations plasmatiques et residus dans le lait. *Revue Medecine Veterinaire*, 145(10), 761-764.
- [IFAH-Europe] Animal Health Europe. (2015). Healthy animals, healthy food, a healthy future. International Forum on Advancements in Healthcare. Brussels: IFAH-Europe [Internet]. [Access 20 April 2020]. Available in: <https://www.youtube.com/watch?v=Q-PETL5otRQ>
- Arauz M. (2016). Residuos de Ivermectina en carne bovina en Matadero Novaterra S.A -Tipitapa enero – junio 2015. Tesis de Médico Veterinario en grado de Licenciatura. Managua: Universidad Nacional Agraria. 43 p.
- Barbieri, C. (2014). Aspectos do controle de resíduos de avermectinas no abate de bovinos. Tese para a obtenção do título de Doutora em Medicina Veterinária, área de Medicina Veterinária Preventiva. Brasil: Universidades Estadual Paulista. 78 p.
- Bioo Scientific Corporation. (2014). Avermectins ELISA Test Kit Manual - 1073-01B [internet]. [Access 20 April 2019]. Available in: <http://www.biooscientific.com/MaxSignal-Avermectins-ELISA-Test-Kit>
- Beltrán, L., González, D., Nallar, R., Ticona, H. (2014). Estudio coproparasitario y ectoparasitario en alpacas (*Vicugna pacos* Linnaeus, 1758) de Apolobamba, con nuevos registros de Phthiraptera (Insecta) e Ixodidae (Acari), La Paz-Bolivia. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 1(2), 2-17.
- Boussinesq, M., Gardon, J., Gardon-Wendel, N., Chippaux, J. (2003). Clinical picture, epidemiology, and outcome of Loa-associated serious adverse events related to mass ivermectin treatment of onchocerciasis in Cameroon. *Filaria J 2 (Suppl 1): S4*. DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2883-2-S1-S4>

- Boussinesq M, Kamguo J, Pion SD, Gardon J, 2006. What are the mechanisms associated with post-ivermectin serious adverse events? *Trends Parasitol*, 22, 244-246. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.04.006>
- Burg, R., Miller, B., Baker, E., Birnbaum, J., Currie, S., Hartman, R.,...Tunac, J. (1979). Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. *Antimicrob. Agents Chemother*, 15(3), 361-367. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.15.3.361>
- Campbell, C., Fisher, H., Stapley, O., Albers-schönberg, G., Jacob, A. (1983). Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. *Science*, 221, 823- 828. DOI: <https://doi.org/10.1126 / ciencia.6308762>
- Carmona, G, Vindas, S. (2013). Uso racional de medicamentos veterinarios en ganado bovino [internet]. [Acceso 23 marzo 2020]. Costa Rica: Universidad Nacional de Costa Rica. 60 p. Disponible en: https://images.engormix.com/s_articles/carmonasolano_medicamentos.pdf
- Casas, E., Casas, G., Chávez, A. (2006). Evaluación de la eficacia y residualidad de una ivermectina 1.5% en vehículo de larga acción (Bovimec ® 1.5% L.A.) en el control de la sarna en alpacas naturalmente infectadas del departamento de Cerro de Pasco [internet], [Acceso 06 octubre 2018]. Lima: UNMSM. 10p.
- Chandler, R. (2018). Serious Neurological Adverse Events after Ivermectin - Do They Occur beyond the Indication of Onchocerciasis? *Am J Trop Med Hyg*, 98(2), 382-388. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0042>
- Chiu, S., Green, M., Baylis, F., Eline, D., Rosegay, A., Meriwether, H. Jacob, T. (1990). Absorption, Tissue Distribution, and Excretion of Tritium-Labeled Ivermectin in Cattle, Sheep, and Rat. *J. Agric. Food Chem*, 38(11), 2072-2078.
- Chiu, S., Sestokas, E., Taub, R., Buhs, P., Green, M., Sestokas, R., Vandenheuvel, W., Arison, B., Jacob, T. (1986). Metabolic disposition of ivermectin in tissues of cattle, sheep, and rats. *Drug Metab Dispos*, 14, 590-600.
- Codex Alimentarius. (2015). Límites Máximos de Residuos (LMR) y recomendaciones sobre la gestión de riesgos (RGR) para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos CAC/MRL 2-2015: Actualizado en la 38ª Sesión de la Comisión del Codex Alimentarius (julio de 2015). FAO y OMS. p 24-25.
- Codex Alimentarius. (2018). Maximum Residue Limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods CX/MRL 2-2018. FAO and WHO. p 26-27.
- [CAPV] Comunidad Autónoma del País Vasco. (2016). Evaluación del plan de investigación de residuos en animales y sus productos en la CAPV [Internet]. [Acceso 22 marzo 2020]. Disponible en:

https://www.euskadi.eus/contenidos/informacion/cont_alim_seg_quimica/es_def/adjuntos/Evaluacion-plan%20nacional-investigacion-residuos-CAPV-2016.pdf

- Condemayta, S., Tapia, M., Apaza, E. (2014). Evaluación antisárnica y antinematódica de una ivermectina de larga acción (Alpamec L.A.) en alpacas del centro de investigación y producción La - Raya. Puno: Universidad Nacional del Altiplano. 10 p.
- Condori, T., Ccorimanya E. (2018). Fortalecimiento de las capacidades para la producción, acopio y comercialización organizada de fibra de alpaca Challhuanca Yanque. Arequipa: Asociación zonal de criadores de camélidos andinos Challhuanca Yanque Colca- Camel. 52 p.
- Crawford, M. (1985). Impacto de los residuos en los productos alimenticios de origen animal y en la salud humana. Revista Científica y técnica, 4(4). p 705 – 723.
- [CORPOICA] Corporación Colombiana de Investigaciones Agropecuarias. (s.f.). Determinación de residuos de insecticidas organofosforados, carbamatos y de ivermectina en leche cruda de ganaderías del trópico bajo colombiano [Internet]. [Acceso el 20 abril 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902011000300036#9
- Crooks, S., Baxter, A., Mccaughey, W. (1998). Abstract. Detection of ivermectin residues in bovine liver using an enzyme immunoassay. Analyst, 123 (2), 355-358
- Danaher, M., Howells, C., Crooks, H., Cerkvenik-Flajs, V., O'keeffe, M. (2006). Review of methodology for the determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices. J. Chromatogr. A, 844(2), 175-203. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.07.035>
- Davoodi J, Norian R., Jalilvand M. (2017). Determination of Ivermectin Residues in Bovine Liver Samples By ELISA and HPLC with Fluorescence Detection. Med Lab J, 11(2), 16-20.
- De los Ríos, E. (2010). Estado de la situación del sector textil camélidos en el Perú (Diagnóstico nacional) [internet], [acceso 06 octubre 2018]. Lima: Organización de Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (UNIDO). 47p.
- Dent, J., Davis, M., Avery, L. (1997). Avr-15 encodes a chloride channel subunit that mediates inhibitory glutamatergic neurotransmission and ivermectin sensitivity in *Caenorhabditis elegans*. The EMBO journal, 16(19), 5867-5879.
- Doyle, E. (2006). Veterinary Drug Residues in Processed Meats - Potential Health Risk. A Review of the Scientific Literature. Food Research Institute [internet]. [Access 21 April 2020]. Available in: https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/FRIBrief_VetDrgRes.pdf

- El-Ashmawy, M., el-Nahas, F. Bayad, E. (2011). Teratogenic and cytogenetic effects of ivermectin and its interaction with P-glycoprotein inhibitor. *Res Vet Sci*, 90(1), 116-123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.05.020>
- El-makawy, A., Mahrous, K. (2008). Antimutagenic Activity of Some Natural supplements on Ivermectin genotoxicity in Lymphocytes of Buffalo. *Egypt. J. Hosp. Med*, 30, 115-125.
- [EMA] European Medicines Agency. (2014). European public MRL assessment report (EPMAR) Ivermectin (All mammalian food producing species) [internet]. [Acceso 27 marzo 2020]. p 5-14.
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations and [WHO] World Health Organization. (2014a). Evaluation of certain veterinary drug residues in food: Seventy-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. India: WHO. p 54-56.
- Fernández-Baca, S. (2005). Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo de la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914. Roma: FAO. 62 p.
- Gardon, J., Gardon-Wendel, N., Demanga-Ngangué, Kamguo, J., Chippaux, J., Boussinesq, M. (1997). Serious reactions after mass treatment of onchocerciasis with ivermectin in an area endemic for *Loa loa* infections. *Lancet*, 350, 18-22. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)11094-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)11094-1)
- González, A., Sahagún, A., Diez, M., Fernández, N., Sierra M., García, J. (2008). The pharmacokinetics and interactions of ivermectin in humans-a mini-review. *AAPS J*, 10, 42-46. DOI: <https://doi.org/10.1208/s12248-007-9000-9>
- González, A., Sahagún, A., Diez, M., Fernández, N., Sierra M., García, J. (2009). The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. *The Veterinary Journal*, 179(1), 25-37. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.011>
- Hopper, K., Aldrich, J., Haskins, S. (2002). Ivermectin toxicity in 17 collies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2002.tb01611.x>
- [INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2012). Resultados definitivos IV Censo Nacional Agropecuario [internet]. [Acceso 20 marzo 2020]. Lima: INEI. p 18-19.
- Laffont, C., Toutain, P., Alvinerie, M., Bousquet-Melou, A. (2002). Intestinal secretion is a major route for parent ivermectin elimination in the rat. *Drug Metab Dispos*, 30, 626-630.
- Lailany, D., Teresa, C., Andrei, S., Ordoñez, D. Roa, L. (2016). Estudio preliminar sobre el uso de la técnica Elisa competitiva para la detección de residuos de Ivermectina en hígado de bovinos. Tesis

de Médico Veterinario en grado de bachiller. Bogotá: Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. 23p.

- Lumaret, J., Martínez, M. (2005). El impacto de productos veterinarios sobre insectos coprófagos: consecuencias sobre la degradación del estiércol en pastizales. *Acta zoológica mexicana*, 21(3), 137-148.
- Macdonald, N., Gledhill, A. (2007). Potential impact of ABCB1 (p-glycoprotein) polymorphisms on avermectin toxicity in humans. *Arch toxicol*, 81(8), 553-563.
- Márquez, D. (2008). Residuos químicos en alimentos de origen animal: problemas y desafíos para la inocuidad alimentaria en Colombia. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 9(1), 124-135. DOI: https://doi.org/10.21930/rcta.vol9_num1_art:112
- Mealey K, Bentjen S, Gay J, Cantor G. (2001). Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene. *Pharmacogenetics*, 11, 727-733. DOI: <https://doi.org/10.1097/00008571-200111000-00012>
- Mealey K, Bentjen S, Waiting D. (2002). Frequency of the mutant MDR1 allele associated with ivermectin sensitivity in a sample population of collies from the northwestern United States. *Am J Vet Res*, 63, 479-481. DOI: <https://doi.org/10.2460/ajvr.2002.63.479>
- Merck Sharp and Dohme BV. (2018). Stromectol (ivermectin) Package Insert. Merck & Co [internet]. [Access 21 April 2020]. Available in: https://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/s/stromectol/stromectol_pi.pdf
- Merck & Co. 1980. MK-933: Multigeneration studies in rats. Unpublished studies; submitted to WHO by Merck & Co., Inc.
- [MAPA] Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (29 de abril 2010). Instrução Normativa N° 8. Programa de Controle de Resíduos e Contaminantes em carnes - PNCRC/2010 [internet]. [Acesso 21 abril 2020]. Brasília: MAPA. 11p.
- [MAPA] Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (2011a). Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes PNCRC/Animal. Instrução Normativa DAS N°06. Brasília. 6 p.
- [MAPA] Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. (2012b). Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes PNCRC/Animal. Instrução Normativa SDA N°07. Brasília. 4 p.
- [MAPA] Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. (2013). Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes PNCRC/Animal. Instrução Normativa SDA N° 07. Brasília. 10 p.

- [MINSA] Ministerio de Salud. (2016). Aprueban la 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”. Diario oficial El Peruano (Lima).
- [MINSAL] Ministerio de Salud. (11 de setiembre de 2019). Resolución exenta N° 1.560 que fija Límites Máximos de Residuos de medicamentos veterinarios en alimentos destinados al consumo humano. Diario Oficial de la república de Chile. 23p.
- [MinSalud] Ministerio de Salud y Protección Social. (2 de mayo 2013). Resolución N° 1382. Límites Máximos para Residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal [internet]. [Acceso el 21 junio 2020]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-1382-de-2013.pdf>
- Mitsui, Y., Tanimori, H., Kitagawa, T., Fujimaki, Y., Aoki, Y. (1996). Simple and sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for ivermectin. *Am J Trop Med Hyg*, 54(3), 243-248.
- Molinari, G. (2010). Ivermectinas: Evaluación de su efecto deletéreo mediante ensayos de genotoxicidad. Tesis doctoral en Ciencias Naturales. Buenos Aires: Universidad Nacional de La Plata. 116p. DOI: <https://doi.org/10.35537/10915/5334>
- Monge, C., Leon-Velarde, F. (1991). Physiological adaptation to high altitude: oxygen transport in mammals and birds. *Physiological Reviews*, 71(4), 1135-1172. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.1991.71.4.1135>
- Mora, G., Liechti, H., Alavarado, L., Lopez, L., Martinez, D., Zapata, M.,...Guerrero, S. (22 setiembre 2010). Norma Técnica obligatoria Nicaragüense NTON 03 087-09. Límite Máximo de Residuos de medicamentos veterinarios [internet]. [Acceso 21 junio 2020]. Managua: MINSA. 17p.
- Moreno, L., Alvarez, L., Ceballos, L., Bruni, S., Lanusse, C. (2008). Pattern of ivermectin (sheep) and doramectin (cattle) residues in muscular tissue from various anatomical locations. *Food Addit Contam Part A*, 25(4), 406-412. DOI: <https://doi.org/10.1080/02652030701552972>
- Paul, J., Abjean, J. (1993). Toxicité de l'ivermectine chez la rat nouveaunée. *Rec Méd Vét* 169, 47-52.
- Pérez, F., Torres, A. (2013). Residuos de Ivermectina en carne bovina en industrial comercial San Martín - matadero de Nandaime septiembre 2012 - Septiembre 2013. Tesis de Médico Veterinario en grado de Licenciatura. Managua: Universidad Nacional Agraria. 49 p.
- Pérez, L., Palma, C., Villegas, R., Vega, M., & Pérez, R. (2006). Metodología analítica y detección de residuos de ivermectina en muestras de leche de rebaños de la provincia de Ñuble, Chile. *Archivos de medicina veterinaria*, 38(2), 143-150. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2006000200008>

- Rodrigues, M., Mattei, R. (1988). Toxicity assessment of the antiparasitic ivermectin. *Toxicity Assessment*, 3(4), 379-384. DOI: <https://doi.org/10.1002/tox.2540030404>
- Rohrer, P., Evans, V., (1990). Binding characteristics of ivermectin in plasma from Collie dogs. *Veterinary Research Communications* 14, 157–165. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00346556>
- Rose, M., Farrington, W. Shearer, G. (1998). The effect of cooking on veterinary drug residues in food: 7. ivermectin. *Food Additives & Contaminants Part A*, 15(2), 157-161. DOI: <https://doi.org/10.1080/02652039809374625>
- [SENASA CR] Servicio Nacional de Sanidad Animal. (2012). Bovinos examinados para determinación de ivermectinas de lotes importados de Panamá. Costa Rica: SENASA. Informe técnico N° SENASA-DG-R035-2012. 3 p.
- [SENASICA] Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2020). Tabla de Límites Máximos de Residuos 2020 [internet]. [Acceso 21 junio 2020]. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/542457/TABLA-LMR-2020.pdf>
- Shi, W., He, J., Jiang, H., Hou, X., Yang, J., Shen, J. (2006). Determination of multiresidue of avermectins in bovine liver by an indirect competitive ELISA. *J. Agric. Food Chem*, 54(17), 6143-6146. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf060878v>
- Solis, C., Wilcock, A., Arellano, S., Morales, L., Mcewen, S. (2011). Prevalence of Ivermectin Residues in Cattle Slaughtered in Federally Inspected Abattoirs in Nuevo Leon, Mexico. *Food Protection Trends*, 31(4), 212-215.
- Sumano, H., Ocampo, L. (2006). Antiparasitarios. En: *Farmacología veterinaria*. 3ª ed. México: McGraw-Hill. p 451-526.
- Swor, T., Whittenburg, J., Chaffin, M. (2009). Ivermectin toxicosis in three adult horses. *J Am Vet Med Assoc*, 235(5), 558-562. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.235.5.558>
- Traverso, C. (2011). Determinación de resistencia antihelmíntica frente a ivermectina de nematodos gastrointestinales en alpacas (Vicugna pacos) Puno - Perú. *Abanico Veterinario*, 1(2): 11-47.
- Turner M, Schaeffer J. (1989). Mode of action of ivermectin. In: Campbell WC, editor. *Ivermectin and Abamectin*, New York: Springer Verlag. 73-88.
- Vaca, A. (2003). Aspectos regulatorios de los medicamentos veterinarios registrados en Colombia e incluidos en el Codex Alimentarius”. Tesis de Médico Veterinario. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. 49 p.
- Victoria, J. (2010). Ivermectina: Sus Múltiples Usos, Seguridad y Toxicidad. *Rev. Chilena Dermatol*, 26(4), 358-368.

ANEXOS

Tabla 1.- Valores de absorvancia relativa y concentración de ivermectina en hígado de alpacas, en la provincia de Caylloma, departamento Arequipa –Perú, año 2019.

Nombre de muestra	Concentración (µg/kg)	Absorvancia relativa (%)	Nombre de muestra	Concentración (µg/kg)	Absorvancia relativa (%)
Estándar 0	0.00	100.00	Muestra 23	0.00	100.00
Estándar 1	0.50	79.84	Muestra 24	61.82	36.31
Estándar 2	1.00	66.36	Muestra 25	21.42	62.83
Estándar 3	2.00	49.37	Muestra 26	0.00	100.00
Estándar 4	4.00	28.26	Muestra 27	0.00	92.96
Estándar 5	8.00	12.17	Muestra 28	0.00	100.00
Muestra 1	79.10	30.14	Muestra 29	0.00	99.30
Muestra 2	0.00	85.14	Muestra 30	0.00	100.00
Muestra 3	0.00	100.00	Muestra 31	0.00	97.06
Muestra 4	0.00	100.00	Muestra 32	0.00	83.29
Muestra 5	0.00	95.49	Muestra 33	0.00	100.00
Muestra 6	0.00	92.71	Muestra 34	0.00	99.89
Muestra 7	0.00	85.37	Muestra 35	0.00	96.78
Muestra 8	0.00	100.00	Muestra 36	0.00	97.08
Muestra 9	0.00	100.00	Muestra 37	0.00	97.73
Muestra 10	0.00	100.00	Muestra 38	0.00	97.53
Muestra 11	0.00	99.75	Muestra 39	0.00	98.01
Muestra 12	0.00	100.00	Muestra 40	0.00	100.00
Muestra 13	0.00	85.98	Muestra 41	0.00	100.00
Muestra 14	0.00	100.00	Muestra 42	0.00	100.00
Muestra 15	0.00	98.04	Muestra 43	30.01	54.39
Muestra 16	0.00	100.64	Muestra 44	0.00	100.00
Muestra 17	0.00	96.44	Muestra 45	0.00	100.00
Muestra 18	0.00	100.00	Muestra 46	0.00	100.00
Muestra 19	0.00	98.65	Muestra 47	0.00	100.00
Muestra 20	0.00	100.00	Muestra 48	0.00	100.00
Muestra 21	17.28	68.21	Muestra 49	0.00	100.00
Muestra 22	0.00	99.24	Muestra 50	0.00	95.74

Figura 1.- Curva de calibración de los estándares para cuantificar residuos de ivermectina en hígado de alpacas, en la provincia de Caylloma, departamento Arequipa – Perú, año 2019.

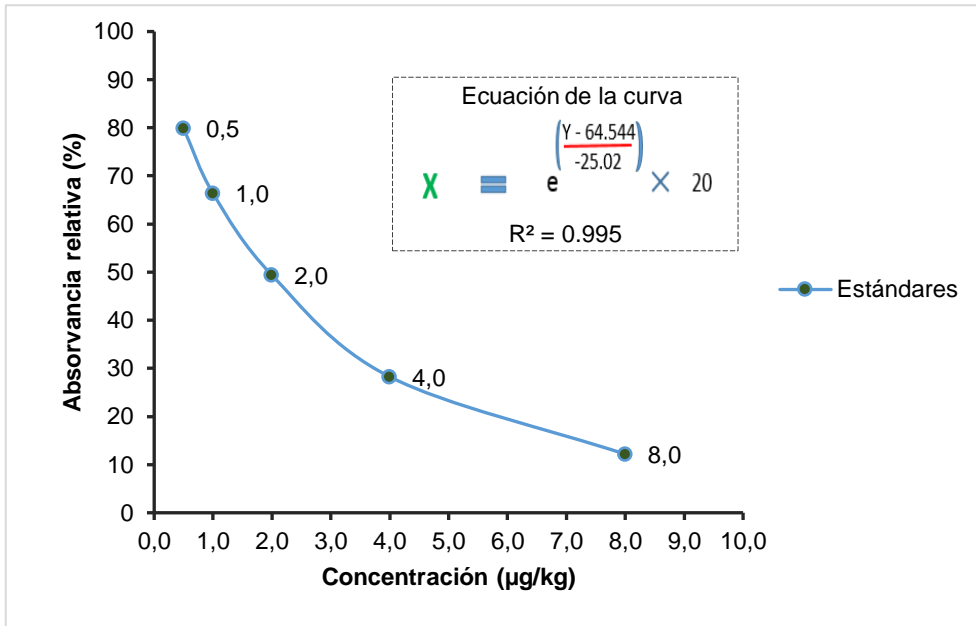


Figura 2.- Cuantificación de residuos de ivermectina en muestras de hígado de alpacas en la provincia de Caylloma, departamento de Arequipa – Perú, año 2019.

