



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias
Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria

**Detección de residuos de antibióticos y sulfonamidas en canales
de vacas de lechería**

Tesis de Grado
presentada como parte
de los requisitos para
optar al título de
Licenciado en Medicina
Veterinaria.

Profesor Patrocinante:
Dra. Erika Gesche R.

Claudia Alejandra Emilfork Konow
Valdivia Chile 1998

PROFESOR PATROCINANTE

Nombre



Firma

PROFESORES CALIFICADORES

Nombre



Firma

Nombre



Firma

FECHA DE APROBACION:

DEDICADA A:

*Mi Madre, quien me brindó la fuerza para no caer,
a mi esposo Alfonso, por su infinita comprensión
y a mis hijos Caty y Juan Pablo quienes supieron esperar.*

INDICE

RESUMEN.	1
SUMMARY.	2
INTRODUCCION.	3
MATERIAL Y METODO.	16
RESULTADOS.	19
DISCUSION.	22
CONCLUSIONES.	25
BIBLIOGRAFIA.	26
ANEXOS.	30
AGRADECIMIENTOS.	31

DETECCION DE RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS Y SULFONAMIDAS EN CANALES DE VACAS DE LECHERIA.

1. RESUMEN

Con el propósito de conocer la incidencia de residuos de antibióticos y sulfonamidas en animales de abasto, se analizaron 300 vacas de lechería provenientes de la planta faenadora de carnes de Osorno y se obtuvieron muestras de tejido muscular diafragmático y de riñón, tanto en vacas de faenamiento de urgencia (n=41) como de faenamiento normal (n=259).

De cada muestra obtenida, se analizaron trozos de 8 mm de diámetro y 2 mm de espesor los que fueron depositados sobre un medio de cultivo mezclado con esporas de *Bacillus subtilis* B.G.A. ajustado a pH 6.0; 7.2 y 8.0.

Basándose en el tamaño del halo de inhibición de crecimiento de la cepa, se pudo comprobar que 13 muestras (4,3%) resultaron positivas a la detección de residuos de antibióticos y sulfonamidas de las cuales 7 muestras (17,1%) correspondieron a vacas de faenamiento de urgencia y 6 muestras (2,3%) a vacas de faenamiento normal.

En relación a vacas de faenamiento de urgencia positivas a la prueba y su causa de faenamiento, la patología que tuvo la más alta incidencia fue mastitis, seguida de cojera y cuerpo extraño.

Finalmente se pudo constatar que de las muestras positivas la mayoría presentó el residuo sólo en riñón, seguido de músculo y riñón siendo muy baja la presentación sólo en músculo.

RESIDUES DETECTION OF ANTIBIOTIC AND SULFONAMIDE IN DAIRY COWS CARCASSES.

SUMMARY

With the purpose to know the incidence of antibiotic and sulfonamides residues in the tissue of slaughter animals, 300 dairy cows were required who proceed from slaughterhouse of Osorno. For this purpose, the samples were obtained from muscular diaphragmatic tissue and kidney, from cows of emergency slaughtering (n=41) and from normal slaughtering (n=259).

From each were taken sample, bits of 8 mm of diameter and 2 mm thickness were deposited in a culture broth mixture with *Bacillus subtilis* B.G.A. spores adjusted to pH 6,0; 7,2 and 8,0.

Based on the size of the inhibition halo of bacterial growing, 13 samples (4.3%) were positives to residues detection of antibiotics and sulfonamides, in wich 7 samples (17.1%) were from emergency slaughtered cows and 6 samples (2.3%) were from normal slaughtering cows.

In relation to positives cows to the test and the causes of slaughtering, the highest pathology incidence was mastitis, follow by lameness and foreing body.

In conclusion, the kidney was the organ with the highest antibacterial inhibitors residues, following by both, muscle and kidney and finally only in muscular tissue.

2. INTRODUCCION

Con el aumento de la población mundial y la demanda cada vez mayor de alimentos, especialmente los de origen proteico, el hombre se ha visto en la necesidad de intensificar la producción de carne y obtener, no sólo cantidad, sino que mejor calidad de proteína animal. Para ésto, el mercado ofrece una amplia gama de drogas disponibles como por ejemplo: Antibióticos, Sulfonamidas, compuestos hormonales, Antihelmínticos, etc (Grossklaus, 1982).

Dentro de esta gama de productos farmacológicos, se debe señalar con especial énfasis a los Antibióticos y Sulfonamidas. Su origen se remonta a comienzos de este siglo cuando se inicia la era de los agentes antimicrobianos con la introducción en la terapéutica de las sulfas y de las penicilinas. Pero ha sido, en las últimas décadas, la etapa de oro en el desarrollo de estas drogas antimicrobianas. Los hallazgos, síntesis y descubrimientos de nuevos fármacos antivirales, antimicóticos y antimicrobianos han sido tan vertiginosos, que en la clínica médica se ha creado un verdadero caos en su sistematización, usos, contraindicaciones y otros problemas inherentes a su empleo adecuado y científico (Calvin, 1985).

La era gloriosa de los antibióticos empezó con el uso de la penicilina en el año 1940, seguido de la estreptomycin en 1944, la eritromicina, tetraciclina y cloranfenicol en 1950, y los aminoglicósidos en 1960. Desde entonces se han sintetizado varios cientos de ellos, pero no más de 60 tienen un uso en la clínica humana y en veterinaria (Martínez y Martínez, 1990).

Los antibióticos se clasifican de acuerdo a su estructura química como también de acuerdo a su espectro de acción antibacteriano, el cual puede ser de espectro reducido y efectivo primariamente para cocos y bacilos Gram positivos; de espectro relativamente reducido y efectivos primariamente contra bacilos aerobios Gram negativos y de amplio espectro antimicrobiano que afectan a gérmenes Gram positivos, y negativos (Grant, 1990 ; Martínez y Martínez, 1990).

Por otro lado en 1935 se descubrió la acción antibacteriana de las Sulfonamidas, las cuales son un compuesto antimicrobiano producto de la síntesis química y por lo tanto, estas drogas son quimioterápicos y no son antibióticos. Las experiencias con Sulfonamidas han demostrado que son bacteriostáticas más que bactericidas. Sin embargo, junto a trimetoprim u otro DAP (5,4- diaminopirimidina) las Sulfonamidas producen una acción antibacteriana que es mayor, que la suma de los compuestos aislados (Booth y McDonald, 1987; Martínez y Martínez, 1990) .

En Medicina Veterinaria los antibióticos y las sulfas han constituido una eficaz herramienta para la producción animal. Su uso, no sólo se limita a la prevención y terapia de una serie de enfermedades, sino que también se emplean como "probiótico" o promotor del crecimiento en la dieta de animales jóvenes incrementando la eficiencia en la utilización y conversión del alimento (Hays, 1986; Shahani y Whalen, 1986). Otras áreas en donde se recurre a los antimicrobianos es en el área de la agricultura, como modificadores del crecimiento de las plantas, también, como conservadores de productos alimenticios; en enología; apicultura y otros posibles usos (Cercos, 1957).

Los antibióticos que se utilizan en producción animal son administrados por diferentes vías :

a)oral, para el tratamiento de enfermedades o para ser incorporados como probióticos

b)parenteral para el tratamiento de numerosas enfermedades

c)local en infecciones del tracto reproductivo

d)infusión mamaria para el tratamiento de mastitis

Todas estas vías llevan en menor o mayor grado a la contaminación de los alimentos con residuos antimicrobianos (Bishop y White, 1984; Jones y col, 1988) .

Booth y McDonald, (1987), definen residuo medicamentoso o químico "como aquella sustancia que como consecuencia del empleo de medicamentos y sustancias químicas en el control y tratamiento de las enfermedades animales o de su inclusión, como aditivos, en el pienso para promover el crecimiento y mejorar la conversión, pueden depositarse o almacenarse en células, tejidos u órganos animales, ya sea como tales o sus metabolitos. También pueden existir residuos cuando a los alimentos se les añade intencionada o involuntariamente medicamentos o productos químicos. Todos los residuos, incluidos los productos madre, sus metabolitos y sus productos de descomposición (o cualquier combinación de los mismos) son potencialmente importantes desde el punto de vista toxicológico."

En la práctica, la eliminación medicamentosa de los tejidos animales nunca alcanza una concentración cero o nivel de tolerancia cero. Conseguir niveles de residuos cero, luego de administrado un medicamento como aditivo en la ración o como terapia, se considera imposible. La eliminación de un medicamento a partir de la grasa y del músculo esquelético es una función lineal, mientras que no lo es para el caso del hígado y del riñón, ya que su unión a las proteínas y a otros componentes biológicos explica una desaparición más lenta de sólo estos órganos. La concentración de residuos varía mucho de tejido a tejido, habiéndose observado por lo anteriormente citado, que es mayor en los tejidos de reserva, como son la grasa corporal, o en los órganos que lo metabolizan y excretan activamente. Por ejemplo, los máximos niveles de residuos suelen darse en la grasa corporal, en el hígado y/o los riñones (Booth y McDonald, 1987).

Nouws , (1981), realizó numerosos estudios sobre la distribución y farmacocinética de los residuos antimicrobianos en vacas de faenamiento de urgencia y en vacas sanas. Los resultados de las investigaciones se analizaron en términos de las diferencias que existen entre las drogas, su distribución y persistencia en el organismo, señalando que la vía por la cual se aplica el antibiótico es importante para su distribución, ya que una administración intravenosa e intramuscular difiere mucho en la persistencia en los distintos órganos y el nivel de residuos dependerá de la propia cinética y de la sensibilidad y especificidad de los diferentes métodos de análisis. Se analizaron diferentes grupos de antibióticos (solos o combinados): beta-lactámicos; aminoglicósidos; oxytetraciclina; cloranfenicol; macrólidos; sulfonamidas y antibióticos para infusión intramamaria y las conclusiones del estudio señalaron que la persistencia de residuos antimicrobianos y sulfonamidas en animales enfermos que llegan a faenamiento de urgencia a matadero, es mucho mayor que en los animales considerados sanos. La persistencia y los altos niveles de drogas encontrados en el suero y riñones y los bajos niveles de eliminación de la droga dependen del organismo animal. En los animales enfermos la distribución y persistencia y excreción, es más lenta que la de los animales sanos debido a la lenta absorción del fármaco por el organismo.

Weaver, (1992), señala que las causas más importantes que determinan la presencia de residuos antimicrobianos corresponden a:

- 61 % a fallas en los períodos de resguardo
- 10 % a un uso inapropiado de las drogas
- 9 % a consumo del ternero con calostro provenientes de madres medicamentadas
- 6 % por carencia de registros médicos
- 6 % a un exceso en la dosis aplicada
- 8 % a causas misceláneas.

Muchos autores coinciden en que la causa más frecuente de hallazgos de residuos medicamentosos corresponde al no cumplimiento de los períodos de resguardo, seguido por un inapropiado uso del antibiótico (Spaulding, 1975; Bevill 1984; Bishop y White, 1984; Hays, 1986; Shahani y Whalen, 1986; Booth y McDonald, 1987; Kaneene y Alwynelle, 1987; Prescott y Baggot, 1988; Jones y col, 1988; Wilson y col, 1991; Hady y col. 1993; Powers, 1993.)

Si bien se han estipulado los períodos de resguardo para cada tipo de quimioterápico, en base a los cuales se han fijado los lapsos mínimos que deben transcurrir entre la aplicación del antibacteriano y el faenamiento del animal, es posible que por ignorancia del riesgo o bien por obviar las pérdidas causadas por la muerte natural de un bovino enfermo, éste se faene antes de lograr la eliminación del fármaco del organismo (Montes y col., 1985). La forma más simple de disminuir la incidencia de residuos en productos de origen animal, es

respetando los "tiempos de resguardo" que debe tener la carne u otro tejido proveniente de animales tratados con estos fármacos. (Bishop y White, 1984). Al respecto, ya a mediados de los años setenta, la FDA. consideraba que el 80 % de los residuos ocurrían porque no se respetaban estos lapsos de tiempo (Spaulding, 1975). Sin embargo, aún respetando los periodos de resguardo, puede ocurrir que se presenten concentraciones residuales de antibióticos en leche o carne, ya que existen múltiples otros factores que influyen en su presencia (Jones y Seymour, 1988).

Es por esto que la suspensión medicamentosa se impone si se pretende evitar residuos de antibióticos en la carne destinados a consumo humano. Los tiempos de suspensión previo al sacrificio, para algunos antibióticos de uso común según Booth y McDonald, (1987) son:

- Dihidroestreptomicina, sulfato 30 días
- Oxitetraciclina, clorhidrato 22 días
- Penicilina G benzatina 30 días
- Sulfonamidas 10-20 días
- Neomicina 30 días

Con el fin de evaluar las concentraciones residuales en los tejidos comestibles los mismos autores señalan que se les suministró en la dieta a cerdos continuamente una cantidad recomendada de penicilina en combinación con las concentraciones recomendadas de clortetraciclina y sulfas. Se observó que después de 0,5 a 7 días de suspensión, todos los tejidos comestibles (hígado, músculo, grasa, riñones), carecían de residuos de penicilina. Sin embargo, al usar un compuesto inyectable en bovinos, de un compuesto combinado de penicilina-benzatínica, penicilina procaínica y dihidroestreptomicina se encontraron residuos de estos agentes en el lugar de inyección y en la orina 45 días después de tratadas. La preparación se administró en suspensión acuosa en una sola dosis intramuscularmente.

En el caso de la Dihidroestreptomicina cerdos tratados 3 días con una dosis de 26 mg /kg/día, asociada a penicilina, se detectaron durante 60 días residuos en los riñones y en los sitios de inyección intramuscular. Los residuos de neomicina puede persistir en los órganos hasta 90 días post tratamiento. En el caso de la tetraciclina, la adición en la dieta de 5 a 20 ppm de tetraciclina no parece originar residuos en los tejidos comestibles, pero sí pueden originar resistencia bacteriana. Los residuos de clortetraciclina en músculo y grasa son negativos (menores al nivel de detectabilidad) cinco días después de suspendida la medicación. En el riñón, en cambio, pueden detectarse residuos de oxitetraciclina 8 días después del tratamiento con una dosis única (Booth y McDonald, 1987). Cabe señalar también que ni el congelamiento ni el tratamiento térmico son capaces de eliminar los residuos en la carne. A modo de ejemplo, el efecto calor sobre la carne causa pequeños o ninguna reducción de los residuos antimicrobianos de oxytetraciclina y sulfas, pero sí reduce la ampicilina en un 30 % y al cloranfenicol en un 60 %. En cambio, el

efecto a -20°C no causa ninguna variación (Okolo, 1986; Booth y McDonald, 1987 ; Prescott y Baggot, 1988; Martínez y Martínez, 1990; FDA, 1991).

En relación a las vías de administración de fármacos en vacas, se ha determinado que, en términos porcentuales, el principal origen de residuos de antibióticos en carne y leche corresponde a las vías parenterales para el tratamiento de enfermedades específicas y a la vía intramamaria, tanto para el tratamiento de mastitis como para terapia de problemas reproductivos. En nuestro medio la adquisición de antibióticos para uso animal no está sujeta a ninguna restricción, pudiendo adquirirse y usarse sin prescripción ni control profesional. Además, muchas veces en la forma farmacéutica no se señalan las precauciones a tomar en cuanto al tiempo de eliminación en carne y leche (Ramírez, 1982) .

Todos los medicamentos empleados en los animales productores de alimentos deben estar aprobados por la FDA, que exige que exista en el alimento un "residuo cero" o que no supere el nivel de tolerancia señalado por esta entidad (Livingston, 1985; Booth y McDonald, 1987).

En Chile, el Reglamento Sanitario de los Alimentos (Chile, 1997) en su artículo N°132 señala respecto a los aditivos alimentarios, "Para los efectos del presente reglamento se consideran aditivos alimentarios permitidos, aquellos cuyo carácter inocuo ha sido evaluado toxicológicamente, considerando especialmente los efectos carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos, en diferentes especies de animales como asimismo en estudios bioquímicos y metabólicos". Además en su artículo N°280 señala también respecto a las carnes "Se prohíbe la comercialización, a cualquier título, de carnes y subproductos con residuos de pesticidas y aditivos, por sobre los niveles de tolerancia fijados por el presente reglamento. El Ministerio de Salud podrá fijar mediante resolución fundada, límites máximos para residuos de medicamentos veterinarios en la carne y otros alimentos".

Sin desconocer las características positivas de los antibióticos y sulfonamidas en nuestras explotaciones pecuarias, que han tenido un claro efecto sobre el control de enfermedades infecciosas, su uso masivo y parcialmente indiscriminado en medicina veterinaria, ha tenido como consecuencia la aparición de ciertos problemas de graves consecuencias y que son motivo de preocupación debido al riesgo que pueden generar en la salud humana.

Estos se centran fundamentalmente en: (Allison, 1985; Calvin, 1985 ; Shahani y Whalen, 1986; Walton, 1987; Collins-Thompson y col, 1988; Ortega, 1988; Martínez y Martínez, 1990; Weaver, 1992).

- la creación de resistencia de los microorganismos a los antibióticos
- aparición de alergias en personas sensibles de grado e intensidad variable
- riesgos específicos producidos por determinados antibióticos

La aparición de gérmenes resistentes a los antimicrobianos, ha aumentado en forma alarmante en los últimos años. La causa fundamental ha sido, sin duda alguna, el uso masivo e irresponsable en el manejo de los antibióticos y quimioterápicos. No es despreciable el papel que puede tener el uso de antibióticos agregados en los suplementos de la dieta de los animales. Las enterobacterias de los animales, como *Salmonella* spp, *E. coli*, etc, son fácilmente transmisibles al ser humano a través de carnes y otros medios. Los primeros gérmenes que presentaron este comportamiento, a los antimicrobianos, fueron los estafilococos; y se calcula que en los medios hospitalarios, estos microorganismos presentan esta particularidad hasta en un 80 % de las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes humanos (Martinez y Martinez, 1990).

La resistencia bacteriana a los antibióticos y sulfas puede ocurrir de tres formas siendo la más importante la conjugación y mutación. El mecanismo de la conjugación es uno de los más importantes, especialmente en las bacterias Gram negativas, pues, los plásmidos pueden transferir resistencia a múltiples drogas antimicrobianas. Esto constituye la resistencia bacteriana transferible. Este mecanismo es el más frecuente y representa un 90 a 95% de los casos de resistencia de los microorganismos a los agentes antimicrobianos. El problema de la resistencia bacteriana transferible se presenta, generalmente cuando se usan antibióticos para tratar cualquier infección y en concentraciones subterapéuticas. Un animal portador de cepas resistentes a uno o más antibióticos, puede eliminar vía fecal estas bacterias resistentes y transmitir las a otro animal o también al ser humano. Esto se ha podido comprobar con cepas de *E. coli*, *Salmonella* y *Shigella*. Es importante señalar también que existe otra forma importante de resistencia, denominada resistencia cruzada, y consiste en que las bacterias resistentes a ciertos antibióticos pueden serlo también a otros agentes antimicrobianos por el hecho de compartir algún mecanismo de acción o de resistencia común. Así, las bacterias que han desarrollado resistencia a sulfonamidas, mostrarán un incremento de la resistencia a todas las sulfas. Igual comportamiento puede presentarse entre los antibióticos de tipo lincosamida, los beta-lactámicos y quinolonas (Martinez y Martinez, 1990) .

Un estudio hecho por el epidemiólogo Holmberg y col. (1986) identificaron a 18 personas con una extraña cepa de *Salmonella* que presentaba resistencia a la tetraciclina, ampicilina y carbamicilina. De estas 18 personas, 13 habían consumido hamburguesas provenientes de carne de un rebaño particular, que estaba recibiendo dosis subterapéuticas de clortetraciclina en la dieta (Hays, 1986).

Numerosos trabajos señalan (Lehmann, 1972; Nouws y col, 1977 y 1979; Allison, 1985; Okolo, 1986; Booth y McDonald, 1987; Prescott y Baggot, 1988; Martinez y col, 1990), que concentraciones subterapéuticas en diferentes tejidos de origen animal, al ser consumidos, pueden originar reacciones de hipersensibilización y se producen generalmente con mucho más gravedad con la penicilina que con otros antibióticos. Estas reacciones pueden ir desde un vulgar prurito, reacciones urticariales, edema de Quinke, exantemas de tipo morbilioso, síndrome de Stevens-Johnson, fiebre medicamentosa y otros.

Varios autores señalan que aproximadamente un 10% de la población humana presenta sensibilidad a la penicilina, y señalan además que, a excepción de la penicilina, es poco frecuente observar reacciones de hipersensibilidad debido a otros antibióticos y menos observado si éstos son consumidos vía oral a través de la comida (Shahani y Whalen, 1986; Jones y Seymour, 1988) .

Otro autor, Walton (1987), señala algo diferente. En una entrevista personal sobre el tema de residuos de antibióticos y sulfonamidas en carne, opina que no existe evidencia que la limitada presencia de estas drogas influya sobre la resistencia bacteriana en el hombre o que desarrolle reacciones de hipersensibilidad, ya que en Europa y Estados Unidos 10 millones de bacterias aisladas no revelaron, ni evidenciaron ningún cambio en cuanto a la resistencia bacteriana. Esta generalización de señalar que la resistencia bacteriana y las reacciones de hipersensibilidad en la población humana se deba a la existencia de residuos medicamentosos en los alimentos, corresponde a una minoría de instancias que pretenden con ello incrementar la producción y ventas de antibióticos en la medicina humana y medicina veterinaria.

Todos los antibióticos pueden provocar efectos negativos específicos como es el caso del cloranfenicol que puede producir anemia aplástica, granulocitopenia, alteraciones hepáticas, neuritis óptica y el síndrome grisáceo en los niños recién nacidos. Esto nos indica que debemos ser muy cautos en el uso de este medicamento utilizando de preferencia otras alternativas que ofrece el mercado farmacéutico. Además de no usarse en ningún caso en que puedan presentarse residuos en los alimentos de consumo humano, por lo tanto, el empleo de este antimicrobiano debe ser en aquellos animales que no van destinados a consumo humano. En los novillos se registran residuos en los tejidos de hasta 21 días después de administrar intramuscularmente cloranfenicol. Un ejemplo resulta el obtenido en un programa de

monitoreo de residuos de cloranfenicol en carne hecho por la Food Safety and Inspection Service (FSIS), que demostró que en 4 vacas de un total de 585 presentaron residuos de este antibiótico en la musculatura. Muy parecido resultó ser el monitoreo en 1982 y 1983 (Booth y McDonald, 1987; Martínez y Martínez, 1990).

Las tetraciclinas en cambio tienen otros efectos negativos, éstas se absorben en el tracto intestinal y se unen fuertemente a los dientes y huesos. La unión de esta molécula al calcio impide el desarrollo dentario esquelético (Martínez y Martínez, 1990) .

En un estudio hecho en México por Vázquez-Moreno y col. (1990), se analizaron 50 muestras de carne bovina para la detección de residuos de antibióticos, donde en el 50% de las muestras se detectó más de un antibiótico, obteniéndose un 86% de muestras positivas con estreptomycin; un 68% con gentamicina; un 40% con tetraciclina; un 12% contenían cloranfenicol y ninguna muestra positiva a penicilina. La concentración residual varió según la familia de la cual proviene el antibiótico.

Otro estudio realizado por FSIS, en los Estados Unidos entre los años 1987 a 1988, basado en la detección de residuos de antibióticos y sulfonamidas en tejidos de bovinos que son beneficiados después de las tres semanas de vida y/o hasta los 150 Kg de peso, se encontraron los siguientes resultados (n= 967): Neomicina fue el antibiótico más frecuente, encontrándose un 44%; inhibidores microbianos no identificados un 30%; estreptomycin 8,9%; penicilina 8,4% y sulfametazina 7,0%; clortetraciclina 6,1% y gentamicina 5,5%. Cloranfenicol no fue detectado. El antibiótico dominante en este estudio fue la Neomicina sola o bien en conjunto con oxitetraciclina, debido a su uso en los sustitutos lácteos como un producto antidiarreico. Esta forma de suministro no está aprobada por la FDA. Su periodo de resguardo abarca 30 días y esta sería una de las causas de su detección en los tejidos animales.

La detección de residuos como la penicilina, estreptomycin y gentamicina resulta de tratamientos hechos a estos animales o bien al calostro contaminado que estos jóvenes animales ingieren. Sin embargo, el agente antimicrobiano en la leche o calostro no siempre es causa de residuo. Un ejemplo es el caso de la penicilina G, que es muy usado en la industria alimenticia y su inactivación es muy susceptible al administrarlo por la vía oral. En cambio la gentamicina administrada oralmente produce residuos por 30 días después de su aplicación (Wilson y col., 1991).

Gibbons y col, (1996), realizaron otro estudio entre los años 1991 y 1993 , donde señalan que residuos no permitidos por la F.D.A fueron encontrados en canales de bovinos. Los residuos encontrados fueron: Neomicina, que fue el antibiótico más frecuente durante los tres años de estudio, le siguen la tetraciclina, gentamicina, oxytetraciclina y penicilina la cual fluctuó de año, en año. La Penicilina resultó

ser el compuesto que aumentó en mayor proporción, de 36,3% en 1991 a 45,2% en 1993. Hacia el tercer año, declinó la proporción de residuos de estreptomycin, debido a que la oxitetraciclina reemplazó a la estreptomycin en 1993. Tetraciclina y gentamicina fueron considerados como el cuarto compuesto más frecuentemente encontrado.

Con el propósito de encontrar solución a los problemas anteriormente citados, se han desarrollado varios métodos de diagnóstico, para detectar residuos de antibióticos, buscando en ellos características como alta sensibilidad, fácil ejecución, amplio espectro antibiótico, breve tiempo en la obtención de resultados y mínimo costo por análisis (Moats, 1986) .

Dentro de los métodos de diagnóstico se pueden encontrar:

- Métodos físico-químicos
- Métodos inmunológicos
- Métodos microbiológicos

Los métodos físicoquímicos son necesarios para identificar y cuantificar residuos de antibióticos en la leche y en los tejidos animales. Existen diferentes técnicas como son la electroforesis de alto voltaje con procedimientos por bioautografía y la cromatografía: GLC (Gas liquid); TLC (Thin-layer); HPLC (High performance liquid chromatography).

En cambio los sistemas inmunológicos se basan en la medición activa del antibiótico o formas presentes del antibiótico que pueden inhibir los microorganismos. La especificidad de los anticuerpos hace de este método muy similar a los métodos enzimáticos. Esto se puede resumir con la siguiente reacción: $Ag + Ab \rightleftharpoons Ag : Ab$. (Katz, 1986) .

La aplicación de estos sistemas inmunológicos son limitados ya que la mayoría de los antibióticos tienen un peso molecular bajo 500. Estas moléculas tienen que juntarse con carriers proteicos para poder crear una molécula que sea capaz de evocar una respuesta inmune y el desarrollo de anticuerpos. Dentro de los técnicas inmunológicas para el análisis de residuos de antibióticos podemos encontrar:

- aglutinación
- radioinmunoensayo
- inmunoensayos no isotópicos
- fluorinmunoensayos
- EMIT (Enzyme Multiplied Immunoassay Technique)
- ELISA

Finalmente dentro de los métodos microbiológicos se pueden encontrar una amplia gama de posibilidades de análisis, las que comprenden: Pruebas de desarrollo simple: que consisten en test de bajo costo, rápidos (durante la noche) y fáciles de realizar y son fácilmente utilizables en el campo, en la planta faenadora o en el laboratorio. Generalmente son utilizados como forma de screening, para la detección de residuos en los diferentes tejidos. Estos métodos consisten en saturar un trozo de algodón con fluido (suero, orina), tejido o extracto de alimento y se deposita en un medio de crecimiento con una cepa sensible. Se incuba durante toda la noche y se observa halos de inhibición si es que el antibiótico se encontrara presente. Se conocen los siguientes métodos (Schwab y Brown, 1986):

- Sistemas de difusión: Test de las cuatro placas, método que utiliza *Bacillus subtilis* B.G.A, *Barcina lutea* y *E. coli* (Nouws y col, 1979); Test del riñón con *Barcina lútea* (Nouws, 1981); Test del *Bacillus subtilis* B.G.A, método oficial de la República Federal de Alemania (Nouws, 1981) .
- Test de la tórula en animal vivo (LAST)
- Test de la tórula en predio (STOP)
- Test de antibiotico/sulfonamidas en terneros (CAST)
- Test de la tórula en predio II : CAST II
- Test de Disponibilidad de antibiótico en el alimento concentrado (RAFT) .

Pruebas de desarrollo en laboratorio: a diferencia con las pruebas microbiológicas anteriores, éstas necesitan de una implementación más especializada y costosa y aunque requieren de menos tiempo para conocer los resultados no siempre son factibles de utilizarlos en forma de screening para la detección de residuos por parte de mataderos o personas no especializadas. Se conocen los siguientes métodos (Schwab y Brown, 1986):

- Sistemas turbimétricos
- Ensayos de receptores competitivos

Los métodos microbiológicos poseen la más alta sensibilidad pudiendo medir en ppb o en ppm. Sin embargo, muchos de los métodos de análisis de residuos carecen de especificidad y requieren ser confirmados por otros sistemas para su identificación individual o de la familia del antibiótico (Nouws y col, 1979).

Una diferencia importante de las anteriores técnicas microbiológicas, con respecto a las inmunológicas, la constituye el tiempo de determinación de los residuos, puesto que estas últimas sólo requieren de minutos para obtener resultados (Bishop y White, 1984).

Nouws y col, (1979) ; señalan sin embargo, que los métodos microbiológicos presentan ventajas frente a otros métodos como son los métodos inmunológicos y fisicoquímicos, ya que resultan ser más económicos y sencillos. Además de que requieren sólo material de uso frecuente en un laboratorio de microbiología, prescindiendo de equipos especializados.

Es importante destacar, en relación a los métodos cualitativos, que no es fundamental conocer la concentración del antibiótico presente en la muestra, puesto que los residuos que se encuentran por debajo de los límites de comprobación de estos métodos, no son perjudiciales para la salud del consumidor (Grossklaus, 1982). Sin embargo, la cuantificación resulta complicada, por el hecho de que no siempre se estará seguro que en la muestra participa un solo tipo de residuo antimicrobiano o que en el tamaño del halo de inhibición participa algún inhibidor inespecífico que aumente dicho diámetro (Korkeala y col, 1985) .

Para detectar la presencia de residuos de antimicrobianos en el animal, las muestras pueden ser tomadas de cualquier tejido del mismo, incluyendo leche, orina, sangre, suero, plasma, lágrimas y bilis (Nouws, 1981). De los microorganismos empleados como cepas sensibles, *Bacillus subtilis* presenta ventajas frente a otras bacterias indicadoras y entre ellas la cepa de Bundesgesundheitsamt (B.G.A) de *Bacillus subtilis*, ha demostrado ser muy sensible para detectar la presencia de inhibidores en muestras de tejidos. Además de otras características como son, el bajo costo del análisis, fácil ejecución, detección de residuos bajo los niveles de tolerancia propuesta para los tejidos musculares; alta repetibilidad del análisis, lo que le permitiría su aplicación en los mataderos (Nouws y col, 1979).

El método de *Bacillus subtilis* B.G.A, es el test oficial de Alemania Federal para detectar la presencia de residuos antimicrobianos en tejido animal (Gesche, 1986).

Este método utiliza tres placas a diferentes pH; pH 6.0 para detectar principalmente residuos de antimicrobianos provenientes de los grupos betalactámicos (penicilinas y cefalosporinas); pH 7.2 más trimetoprim, para detectar sulfonamidas y pH 8.0 para, aminoglicósidos (estreptomocina, kanamicina, gentamicina), tanto en el tejido renal como muscular (Nouws y col, 1979 y Nouws 1981; Gesche, 1986).

La lectura (Gesche, 1986) de la técnica se realiza en la medición del halo entre el borde del tejido y el límite de crecimiento. El informe se realiza de acuerdo a lo anterior. Una inhibición clara y total del crecimiento de a lo menos 2 mm, se considera positiva; una de 1-2 mm sospechosa cuando los controles paralelos han denotado un halo de inhibición perfecto de un tamaño cercano a los 6 mm.

El criterio de decomiso frente a la presencia de residuos de antibióticos, que impera en la RFA, es el de eliminación total de la canal sólo cuando se pesquisan halos de inhibición en las muestras de músculo, disponiéndose el decomiso de los órganos de la res, cuando el inhibidor se presenta únicamente en el tejido renal.

En Chile, durante los años 1983 y 1984 se realizó un estudio para determinar residuos de pesticidas y antibióticos en carnes bovinas en la IX y X regiones, donde fueron analizadas 1000 muestras pertenecientes a canales bovinas de diferentes categorías. Para ello se sometieron las muestras al método de detección de inhibidores en placa de Petri empleando *Bacillus subtilis* B.G.A como cepa sensible. Se consignaron todas las formas de presentación del halo como presunta presencia de antibióticos, quedando su confirmación a la posterior aplicación de electroforesis. En base a estos antecedentes se obtuvieron 262 muestras presuntivas a inhibidores en la IX y X regiones, de las cuales 154 muestras correspondieron a la décima región. Se constató además que vaca, vaquilla y novillo fueron las categorías con mayor presencia y las ciudades más involucradas eran Osorno y Cautín. Al hacer el análisis de electroforesis de las 262 muestras presuntivas, se pudo comprobar que sólo en 1 caso había presencia de antibiótico, correspondiendo sólo a tejido muscular. De los restantes análisis de electroforesis se pudo deducir que en la totalidad de los casos existían inhibidores inespecíficos diferentes a antibióticos que corresponderían a diversos inhibidores inespecíficos en gran medida a enzimas presentes en la orina del tejido renal. Este estudio realizado por la Universidad Austral de Chile y el Ministerio de Agricultura sirvió de base para señalar el tipo de animal a muestrear, la confiabilidad y número muestral del presente estudio (Montes y col, 1985).

Considerando, los escasos antecedentes sobre presencia de residuos de antibióticos y quimioterápicos en reses de abasto que existen en nuestro país, con el presente trabajo se pretende conocer la incidencia que tienen en vacas de lechería que se destinan a faenamiento en una planta faenadora de carnes de la décima región y de relacionar vacas positivas a residuos con la causa de su faenamiento. Es necesario mencionar que se consideraron a las vacas de lechería por ser éstas una población de alto riesgo en cuanto a la presencia de residuos de antimicrobianos en carne, debido a que la aplicación de antimicrobianos en bovinos se realiza principalmente en vacas de lechería, respecto a lo cual Hays, (1986) señala que en EE.UU el 75% de las vacas habrían recibido alguna vez antibiótico en alguna etapa de su vida.

3. MATERIAL Y METODO

3.1. Material

Con el fin de obtener información acerca de la presencia o ausencia de residuos antimicrobianos en bovinos, específicamente en vacas de lechería, se llevó a cabo el estudio con muestras obtenidas en la planta faenadora de carnes de Osorno S.A, en el período 31.1.97 y 22.2.97. Un estudio realizado por la Universidad Austral de Chile y el Ministerio de Agricultura (Montes y col,1985) sirvió de base para señalar la confiabilidad y el número muestral del presente estudio. De un total de 300 vacas obtenidas al azar, suficiente para dar una confiabilidad de un 95%, se obtuvieron 41 vacas de faenamiento de urgencia y 259 vacas de faenamiento normal.

Muestras de tejido muscular, preferentemente de la zona del diafragma, libres de grasa y de aponeurosis y de riñón de animales recién sacrificados fueron almacenados en bolsas de polietileno y congelados inmediatamente a -18°C . Cada muestra fue registrada en un protocolo de muestreo con el fin de señalar la causa de faenamiento. De las 300 vacas muestreadas, 259 correspondieron a faenamiento normal y 41 a faenamiento de urgencia (anexo N°1).

Las causas de faenamiento de urgencia fueron:

- Cesáreas	1
- Cuerpo extraño	7
- Mastitis	10
- Descaderada	6
- Cojera	7
- Fractura	1
- Problema al parto	1
- Otras causas	8

3.2 Método

Las muestras congeladas fueron llevadas en cajas isotermas al Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria de la Universidad Austral de Chile para ser sometidas al análisis de presencia de residuos de antibióticos y sulfonamidas aplicando la técnica microbiológica del *Bacillus subtilis* B.G.A como cepa sensible, de acuerdo a la metodología descrita por Gesche (1986) .

3.2.2 Preparación del sustrato para el análisis

Para la preparación del sustrato para detección microbiológica de residuos de inhibidores se usó un medio de cultivo con la siguiente composición:

- Peptona de carne..... 3,45 g
- Peptona de caseína..... 3,45 g
- Cloruro de sodio..... 5,10 g
- Agar Agar 13,00 g
- Agua destilada 1000,00 ml

Los ingredientes se disolvieron y se distribuyeron en matraces, a razón de 100 ml ajustando posteriormente el pH a 6.0; 7,2 y 8.0 con HCL o Na OH , utilizando para esto cintas especiales de pH y su valor se controló nuevamente luego de autoclavar el cultivo. Se le agregó además a cada matraz una solución tampón de KH_2PO_4 al 0,1%. Posteriormente se colocaron los matraces en el autoclave para su esterilización a 120°C por 15 minutos.

Una vez terminada la esterilización y enfriados los matraces a 45°C se procedió a descongelar la cepa del *Bacillus subtilis* B.G.A y agregar 100 ul de la suspensión de esporas a cada matraz, quedando a una concentración de 10^4 u.f.c./ml. Al matraz de pH 7,2 se le adicionaron 0.05 ug/ml de solución de Trimetoprim como antifolante de sulfonamidas. Se procedió a llenar las placas de Petri de 9 cm de diámetro a razón de 12,5 ml, de modo de obtener una altura de 2mm. Una vez gelificado el agar se procedió a su almacenamiento en refrigeración a 4°C por un máximo de una semana.

3.2.3. Control del sustrato

Para comprobar viabilidad y sensibilidad de la cepa, se preparó una solución de Penicilina en concentración de 0,01 ug/100ul y soluciones de Sulfonamida y de Estreptomicina en concentración de 0,5 ug/100 ul, los que fueron depositados en una perforación de 8 mm de diámetro en los sustratos a pH 6.0; 7.2 y 8.0 respectivamente.

Las placas fueron incubadas a $32 \pm 2^\circ\text{C}$ por 20 horas, tiempo después del cual debían visualizarse halos de inhibición de aproximadamente 6mm alrededor de cada inhibidor.

3.2.4. Procesamiento de muestras

Las muestras se retiraron del congelador y fueron sometidas a temperatura ambiente por 10-15 minutos. Con un sacabocados de 8 mm de diámetro se obtuvieron cilindros de tejido muscular y de riñón, que se seccionaron a razón de 2 mm de altura. Los trozos obtenidos de cada tejido, se colocaron sobre las placas de Petri de cada pH y se procedió a su incubación por aproximadamente 18-24 hrs.

3.3 Lectura de resultados

La lectura de los resultados se obtuvo determinando el tamaño del halo de inhibición de las bacterias, causado por la presencia del antimicrobiano en el trozo de tejido utilizando para ello un pié de metro (anexo N°2) . La línea considerada como tamaño fue la comprendida entre el borde del tejido y el inicio del crecimiento bacteriano.

En la práctica, con un halo igual o superior a 2 mm se consideró positiva la muestra.

3.4 Evaluación

Considerando que los datos obtenidos son de tipo cualitativo se hará una descripción de casos positivos y su relación con el total de muestras analizadas.

4. RESULTADOS

Al hacer los análisis de residuos de inhibidores presentes en las 300 vacas muestreadas, tanto sanas como de faenamiento de urgencia, se obtuvieron los resultados cuyo detalle se exponen en los siguientes cuadros :

Cuadro N° 1: Número y porcentaje de animales que resultaron positivos y negativos a la prueba de detección de residuos de Antibióticos y Sulfonamidas (n = 300) .

	N° animales	%
Positivos	13	4,3
Negativos	287	95,6
Total	300	100,0

Del cuadro N°1 se desprende que de una muestra de 300 vacas, 13 vacas resultaron positivas a la prueba microbiológica de detección de residuos de antibióticos y sulfonamidas, lo que corresponde a un 4,3%.

Cuadro N°2: Número y porcentaje de animales sanos y de faenamiento de urgencia positivos y negativos a la prueba de detección de residuos de Antibióticos y Sulfonamidas.

	Sanas		Urgencia	
	N°	%	N°	%
Positivas	6	2.3	7	17.1
Negativas	252	97.2	34	82.9
Total	259	100,0	41	100,0

Del cuadro N°2 se desprende que 6 vacas sanas resultaron positivas a la prueba, lo que correspondería a un 2,3% dentro de un total de 259 individuos sanos y a 7 vacas de faenamiento de urgencia se le detectaron residuos lo que correspondió a un 17.1% consideradas dentro del total de 41 que llegaron en la condición de urgencia.

Cuadro N° 3 : Relación de vacas positivas a la prueba de residuos de antibióticos en el total de causas de faenamiento de urgencia.

Causas urgencias	Positivas / total
Cesáreas	0 / 1
Cuerpo extraño	1 / 7
Mastitis	4 / 10
Descaderada	0 / 6
Cojera	2 / 7
Fractura	0 / 1
Problema al parto	0 / 1
Otras causas	0 / 8

Se desprende del cuadro N°3 que la principal causa de presencia de residuos de inhibidores bacterianos vacas que fueron faenadas de urgencia, corresponden a mastitis seguido de cojeras y cuerpo extraño.

En los siguientes cuadros cuyo detalle se encuentra en el anexo N°2, se presentan los resultados del análisis por cada tejido analizado de las vacas que presentaron residuos de antibióticos y sulfonamidas.

Cuadro N° 4 : Relación de hallazgos positivos a uno o ambos tejidos de las 13 vacas que presentaron residuos de inhibidores.

Tejido	Positivas / total
Músculo y riñón	5/13
Solo riñón	7/13
Solo músculo	1/13

Del cuadro N° 4 , se desprende que la mayor obtención de residuos de antimicrobianos y sulfonamidas a la prueba microbiológica de un total de 13 vacas positivas , correspondió a sólo riñón, seguido de músculo y riñón y por último una sola muestra positiva a músculo .

Cuadro N° 5: Relación de resultados positivos de los tejidos en el total de vacas sanas y de faenamiento de urgencia.

Tejido	Positivas / total	
	Sanas	Urgencia
Músculo y riñón	3 / 6	2/7
Solo riñón	2 / 6	5/7
Solo músculo	1 / 6	0/7

El cuadro N°5 demuestra que en vacas sanas que resultaron positivas a residuos de antibióticos y sulfonamidas, se encontró una mayor proporción de reaccionantes positivos a ambos tejidos, mientras en vacas de faenamiento de urgencia, predominó la reacción positiva detectable sólo en riñón. El hallazgo de reacción positiva a inhibidores sólo en músculo, correspondió a una vaca sana.

5. DISCUSION

Dentro de las reses de abasto se puede considerar a las vacas como una de las poblaciones animales de más alto riesgo en cuanto a presencia de residuos de antibióticos en la carne, dado fundamentalmente porque su destino a carne obedece a desecho por patologías que las hacen inaptas para continuar en la producción de leche o bien por una avanzada edad que involucra una ineficiencia productiva. También debe considerarse que la aplicación de antimicrobianos en bovinos, se hace de preferencia en vacas de lechería, respecto a lo cual Hays (1986) indica que en EE.UU de N.A. el 75% de las vacas de lechería habrían recibido alguna vez antibiótico en alguna etapa de su vida.

De los resultados descritos en el Cuadro N°1 se deduce que el 4,3% del total de vacas sometidas a análisis, resultaron positivas a la detección de residuos de antibacterianos, dato que no difiere mayormente de aquel señalado por Spaulding (1975) quien encontró en E.E.U.U. de N.A. una prevalencia de residuos de antimicrobianos en un 3,2% de las vacas de lechería sometidas a análisis. A su vez, Prescott y Baggot (1988) indican que en EE.UU de N.A. y en Europa, se encontrarían bajos niveles de residuos de antibióticos que no involucran más allá del 1% de los productos de origen animal.

Esta incidencia de residuos de antibacterianos encontrada en el presente trabajo, se ve disminuida al separar la muestra en aquellas procedentes de vacas consideradas sanas y en vacas de beneficio de urgencia, datos que están representados en el Cuadro N°2. Del mencionado Cuadro se desprende que no más del 2,3% de las vacas sanas presentaron residuos de antibióticos, cifra que difiere significativamente de aquella obtenida por Montes y col.(1985) quienes encontraron residuos de antibióticos en el 0,1% de canales faenadas en la zona de mayor producción bovina en Chile. Esta diferencia puede atribuirse en primer término al tipo de población muestreada, que en el caso de Montes y col. (1985) fueron canales de bovinos de todos los tipos y en el presente estudio sólo se consideraron vacas adultas, que de acuerdo a Caro, (1995) representan el 8,96% de las reses bovinas faenadas en los mataderos de la X Región.

Otra posible causa que avala la gran diferencia en la incidencia de residuos de antibióticos encontrados en ambos estudios realizados en nuestro país, con un lapso de 12 años, dice relación con la situación económica de franca recesión que presentaba la agricultura en el año 1985, lo cual fue causa de una marcada disminución en la aplicación de productos medicamentosos en la ganadería.

Por otra parte, Gibbons y col (1996) reportan para EE.UU de N.A. un 9,2% de presencia de residuos de antimicrobianos en canales de ganado, cuya muestra estaba compuesta en un 74% por vacas. Edwards y col (1995) en una evaluación sobre los potenciales riesgos que constituyen las reses beneficiadas, tomaron muestras de 30 canales que pasaron la inspección rutinaria *antemortem*, de las cuales 3 (10%) presentaron residuos de antibióticos en cantidad suficiente que determinó su decomiso total. El examen *postmortem* de estas reses, determinó presencia de mastitis en una, de un absceso en otra y de endocarditis vegetativa en la última.

El resultado de un 17,1% de vacas positivas a residuos de antimicrobianos dentro de las 41 vacas que llegaron a faenamiento por causas que justificaban un beneficio de urgencia (Cuadro N°2), corrobora el mayor riesgo de presencia de residuos de inhibidores bacterianos que implica esta causal de faenamiento. Es por ello que en los países en que este análisis está incluido en la legislación sanitaria, la disposición indica que debe realizarse en toda res de faenamiento de urgencia (Gesche,1986). Este hecho se explica en primer término porque los animales que padecen alguna enfermedad tienen mayor probabilidad de haber sido tratados con antimicrobianos y en segundo término porque de acuerdo a Nouws y col (1979), la persistencia de residuos de drogas antimicrobianas es mucho mayor en los animales enfermos que en los animales sanos.

La proporción de vacas que resultaron positivas a la presencia de residuos de antimicrobiano, de acuerdo a la causa del beneficio de urgencia, se visualiza en el Cuadro N°3, del cual se desprende que la mayor proporción de vacas positivas tenían mastitis como causa de beneficio de urgencia (4 de 10), seguido de cojera (2 de 7) y finalmente una vaca cuya causa de faenamiento de urgencia obedeció a la presencia de cuerpo extraño (1 de 7) . Estos resultados demuestran que la situación en nuestro país es similar a la que describe Hady y col. (1993) quienes señalan que en vacas de lechería los antimicrobianos son utilizados fundamentalmente para tratar mastitis, endometritis, enfermedades del tracto respiratorio, desórdenes digestivos, laminitis y otras más infrecuentes, donde el 56% de los tratamientos hechos, corresponden a mastitis y endometritis.

Si a los hallazgos de presencia de residuos de antimicrobianos obtenidos en el presente estudio, se hubiere aplicado el criterio de decomiso que indica la legislación de los países que utilizan la prueba de detección microbiológica en placa con *Bacillus subtilis* BGA, habría significado decomiso total de 6 canales y decomiso de órganos de 7 vacas. Esta deducción se desprende de los resultados presentados en el Cuadro N°4 en que aparecen 5 de 13 canales que presentaron residuos en músculo y riñón y una canal que presentó residuos sólo en músculo. Las 7 canales en que se presentaron residuos de antimicrobianos sólo en riñón, se habrían visto afectas al decomiso de la totalidad de los órganos.

Este criterio de decomiso se basa en que para la mayoría de los antibióticos el órgano de excreción es el riñón y por ende es factible que aún se encuentre en él, cuando ya ha desaparecido de la musculatura (Nouws, 1981; Korkeala y col. 1983) . A este respecto Booth y McDonald (1987) agregan que la concentración de residuos varía mucho de un tejido a otro, siendo mayor en los tejidos de reserva, como son la grasa corporal o en los órganos que lo metabolizan y excretan activamente como son riñón e hígado.

Por otra parte, al aplicar el criterio de decomiso sólo a las 7 vacas de beneficio de urgencia, simulando la reglamentación sanitaria europea, se habría decomisado la canal completa de 2 vacas y la totalidad de los órganos de las 5 restantes que resultaron positivas sólo a las muestras de riñón (Cuadro N°5) . Llama la atención que de las 6 vacas consideradas sanas, que resultaron positivas a residuos de antibióticos, fueron 4 las que presentaron residuos en la musculatura, lo cual habría representado un decomiso de canal completa proporcionalmente mayor en vacas sanas positivas que en vacas positivas de beneficio de urgencia (Cuadro N°5) . Este hecho puede explicarse por la afirmación de Nouws y col (1981) quienes señalan que en los animales de beneficio de urgencia no existe relación entre los niveles del medicamento del riñón con respecto al músculo. También la vía de administración del fármaco tiene importancia en la distribución en los diferentes órganos. Es así como residuos de antibióticos utilizados en tratamientos intramamarios de mastitis, en dosis convencionales, son detectados en tejido renal y no en tejido muscular (Nouws y col,1979; Booth y McDonald,1987).

Como se mencionó anteriormente el nuevo reglamento sanitario de alimentos que comenzó a regir en nuestro país desde el mes de noviembre de 1997 (Chile, 1997) con respecto a la carne, señala en el artículo N°280: "Se prohíbe la comercialización, a cualquier título, de carnes y subproductos con residuos de pesticidas y aditivos, por sobre los niveles de tolerancia fijados por el presente reglamento. El Ministerio de Salud podrá fijar mediante resolución fundada, límites máximos para residuos de medicamentos veterinarios en la carne y otros alimentos".

Del contenido del artículo se deduce que este Reglamento no contempla aún la detección de residuos de antimicrobianos en la carne, sin embargo la última frase podría indicar que existe la intención de implementar la detección de estos residuos, los resultados obtenidos en este trabajo podrán servir de base para que las autoridades de Salud del país puedan discernir sobre la importancia que debe atribuirse a la implementación de la detección de residuos de antibióticos en carne de consumo nacional.

6. CONCLUSIONES

- De las vacas faenadas en el mes de Febrero del año 1997 en una Planta Faenadora de Carnes ubicada en la X Región de Chile, el 4,3% dio respuesta positiva a la detección de residuos de antibacterianos.
- Al separar las vacas consideradas sanas de aquellas de faenamiento de urgencia se detectó un 2,3% y un 17,1% de positividad respectivamente.
- Dentro de las ocho causales de faenamiento de urgencia que se registraron en el periodo de muestreo, dieron respuesta positiva a residuos de antibióticos : mastitis, cojera y cuerpo extraño.

7. BIBLIOGRAFIA

1. ALLISON, J.R.D. 1985. Antibiotic Residues in Milk. British Veterinary Journal 141 (1):9-17.
2. BISHOP, J.R AND WHITE, 1984. Antibiotics Residue Detection in Milk. A Review. Journal Food Protection 47: 647-652.
3. BEVILL, R.F. 1984. Factors influencing the occurrence of drug residues in animal tissues after the use of antimicrobial agents in animal feeds. Journal of American Veterinary Medical Association 185: (10), 1124-1126.
4. BOOTH, N.H.; L.E. MCDONALD, 1987. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Editorial Acribia, Zaragoza (España), pp:449-479.
5. CALVIN, M.K. 1985. Resistencia a los antibióticos un problema de salud mundial que no podemos ignorar. Revista Médica de Chile, 113: 804-805.
6. CARO, M. 1995. Análisis de la Clasificación y Tipificación oficial de Canales de Bovinos en la X Región durante 1994. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
7. CERCOS, A. 1957. Los Antibióticos y sus aplicaciones agropecuarias. Salvat, Barcelona, España.
8. COLLINS-THOMPSON, D.L; WOOD, D.S; THOMSON, I.Q. 1988. Detection of Antibiotic residues in consumer milk supplies in North America 'using the Charm Test II Procedure. Journal of Food Protection, 51 (8):632-633.
9. CHILE, 1997. Ministerio de Salud. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Decreto N°132 y 280. Diario oficial de la República de Chile. 13 de Mayo.
10. EDWARDS, F.J; SIMPSON R.B; BROWN W.C, 1995. Bacteriologic culture and histologic examination of samples collected from recumbent cattle at slaughter. Journal of American Veterinary Medical Association 207: (9) 1174-1176.

11. FDA, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1991. Tolerance and/or safe levels of animal drug residues in milk. Department of Health and Human Services, pp:1-2.
12. GESCHE,E, 1986. Detección de rsiduos de antibióticos en carne. Técnica del *Bacillus subtilis* B.G.A. Monografías de Medicina Veterinaria 8: 1-5.
13. GIBBONS, N.S; KANEENE J.B; LLOYD W.J, 1996. Patterns of chemical residues detected in US beef carcasses between 1991 and 1993. Journal of American Veterinary Medical Association. 209: (3) 589-593.
14. GRANT,P.R, 1990. Antibióticos y Quimioterápicos Antimicrobianos. De. Universidad de Concepción, Chile.
15. GROSSKLAUS, D, 1982. Inspección Sanitaria de la carne de ave. Acibia, Zaragoza, (España) .
16. HAYS, B.W, 1986. Benefist and risk of antibiotics use in agriculture. Agricultural uses of antibiotics de W.A Moats. Washington, D.C.USA, (ACS Symposium Series N°320). American Chemical Society: 74-78.
17. HADY, P.J; LLOYD, J.W; KANEENE, J.B, 1993 .Antibacterial use in lactating dairy cattle. Journal of the American Veterinary Medical Association 203: (2) 210 218.
18. HOLMBERG Y COL.1986, citado por Hays,B.W, 1986.
19. JONES, G.M. AND SEYMOUR, E.H, 1988. Cowside antibiotic residue testing. Journal Dairy Science 71 (6): 1691-1699.
20. JONES, G.M; MCGILLIARD, M.L AND SEYMOUR,E.H, 1988. Persistence of residues in milk following antibiotic treatment of dairy cattle. Journal of Dairy Science 71: 2292-2296.
21. KANEENE, J.V AND ALWYNELLE, S.S, 1987. Drug residues in the dairy cattle industry: epidemiological evaluation of factors influencing their ocurrence. Journal of Dairy Science. 70: 2176-2180.
22. KATZ,S.E, 1986. Microbiological Assay Procedures for Antibiotic Residues Agricultural uses of antibiotics de W.A Moats. Waschingtong, D.C. U.S.A. (ACS Symposium Series N°320) . American Chemical Society: 74-78.

23. KORKEALA, H; O. SORVETTULA; MAKI-PETÄYS AND J.HIRN, 1983. Comparison of Different Agar Diffusions methods for the detection of residues in the Kidney of Pig Treated with Antimicrobial Drugs Meat Science 9: 291-304.
24. LEHMANN, R.P, 1972. Implementation of the Recommendations Contained in the Report to the use of Antibiotics in Animal Feed . Journal Animal Science 35: 1340-1341.
25. LIVINGSTON,R.C, 1985. Antibiotic residues in animals derived food. J. Assoc. Off. Anal. Chem 68: 966-967.
26. MARTINEZ MERA, J.L; MARTINEZ ORMEÑO, L.A,1990. Antibióticos y Quimioterápicos antimicrobianos. Escuela de Medicina, Universidad de Concepción; Chile.
27. MOATS, W.A, 1986. Agricultural uses of antibiotics de W.A Moats, Washington, D.C; USA; (Simposium Series N°320). American Chemical Society 9-181.
28. MONTES, L; TAMAYO, R; GESCHE, E; PINTO, M; CASTRO, R; SHOEBITZ, R; CRISTI, R; ARANDA, X; SAEZ, L; DÖLZ, H; SILVA,R. 1985. Informe final proyecto determinación de residuos de pesticidas y antibióticos en carne bovina de la IX y X Regiones y análisis teórico de la situación actual nacional en relación a la aplicación de hormonas en bovinos. UACH y Ministerio de Agricultura, Valdivia.
29. NOUWS, J.F; SCHOTHORST, M AND ZIV, G. 1977. Tissue Distribution and Residues of Some Antimicrobial Drugs in Normal and Emergency-Slaughtered Ruminants 9-111.
30. NOUWS, J.F; VAN SCHOTHORST, M; ZIV, G. 1979. A critical evaluation of several microbiological test for residues of antimicrobial drugs in ruminants. Archiv für Lebensmittelhygiene 30:4-8.
31. NOUWS, J.F, 1981. Tolerances and detection of Antimicrobial Residues in Slaughtered Animals. Archiv für Lebensmittelhygiene 32:103-110.
32. ORTEGA, P.M, 1988. Empleo de antibióticos en alimentos para animales y sus consecuencias sobre la Salud Pública. La Revista de Investigación Clínica 40: 463-472.
33. OKOLO, M.I.O. 1986. Bacterial drug resistance in meat animals : a review. International Journal Zoonosis. 13 : 143-152.

34. PRESCOOT, J.F. Y J.D. BAGGOT. 1988. Terapéutica Antimicrobiana Veterinaria. Ed. Arancibia S.A. Zaragoza, España, pp: 393-398.
35. POWERS E. T. , 1993 . FDA responsibilities in regulation of drugs for use in animals: Congressional perspective. Journal of the American Veterinary Medical Association. 202 :1609-1612.
36. RAMIREZ, J. 1982 . Residuos de antibióticos en leche y carne. Informativo Agrolécherero Soprole. Año III (4): 51.
37. SPAULDING , J. E. 1975. Can the Veterinary Profession afford drug residues ?. Journal of American Veterinary Medical Association. 167 (1) : 78.
38. SHAHANI. K.M. AND J.P. WHALEN; 1986. Significance of Antibiotics in Foods and Feeds. Agricultural uses of antibiotics . de. W. A . Moats. Washington, D.C. USA; (ACS Symposium Series N° 320). American Chemical Society : 89-99.
39. SCHWAB, B AND BROWN, J. ; 1986. The U.S. Department of Agriculture Meat and Poultry Antibiotic Residue Testing Program. Agricultural uses of antibiotics de. W. A . Moats. Washington, D.C. USA; (ACS Symposium Series N° 320) . American Chemical Society : 74- 78
40. VÁZQUEZ- MORENO, L.; M.C. BERMÚDEZ; A. LANGURÉ; Y. HIGUERA-CIAPARA; M. DÍAZ DE AGUAYO; E. FLORES, 1990. Antibiotic Residues and Drug Resistant Bacteria in Beef and Chicken Tissues. Journal of Food Science 55: (3), 632-634.
41. WALTON, J. R.; 1987. Antibiotic residues in meat. (personal viewpoint). British Veterinary Journal. 143 : 485- 486.
42. WEAVER, L. D. 1992. Antibiotic residues in milk and meat : Perceptions and realities. Veterinary Medicine. 87 (12) : 1222-1228.
43. WILSON, D. J.; B.B. NORMAN; CH. E. FRANTI, 1991. Detection of antibiotic and sulfonamide residues in bob veal calf tissues : 967 cases (1987-1988). Journal of the American Veterinary Medical Association. 199: (6), 759-766.

8. ANEXOS

ANEXO N° 1 : Número de vacas normales y de urgencia faenadas entre los días 31.1.97 y 22.2.97.

Fecha	N° vacas normales	N° vacas urgencia	Total
31.1.97-6.2.97	-	7	7
10.2.97	13	2	15
11.2.97	7	7	14
12.2.97	44	4	48
13.2.97	4	3	7
14.2.97	24	-	24
15.2.97	31	4	35
17.2.97	-	3	3
18.2.97	42	5	47
19.2.97	36	2	38
20.2.97	5	-	5
21.2.97	-	4	4
22.2.97	53	-	53
TOTAL	259	41	300

ANEXO N° 2: Tamaño de los halos detectados en músculo y riñón a los diferentes pH del sustrato de cultivo en animales de faenamamiento de urgencia y normales.

Muestra N°	Músculo			Riñón		
	6.0 (mm)	7.2 (mm }	8.0 (mm)	6.0 (mm)	7.2 (mm }	8.0 (mm)
Animales de urgencia						
1	2.4	-	-	5.1	5.5	5.1
2	-	-	-	4.0	5.3	7.0
3	-	-	-	6.4	6.7	6.9
4	7.5	6.1	5.9	14.1	10.1	11.4
5	-	-	-	4.5	3.0	3.8
6	-	-	-	6.1	5.5	3.6
7	-	-	-	4.3	3.7	4.1
Animales normales						
8	6.3	6.2	3.4	7.7	6.7	7.4
9	-	-	-	11.6	14.0	12.8
10	6.9	8.0	5.9	2.8	2.4	-
11	4.6	6.0	4.7	-	-	-
12	-	-	-	7.0	8.0	7.6
13	2.9	2.5	-	4.2	3.9	-

AGRADECIMIENTOS

Deseo manifestar mi gratitud a todas aquellas personas que contribuyeron para el término de esta tesis. En forma especial a la Dra. Erika Gesche por su excelente patrocinio y apoyo.

Al Frigorífico S.A. de Osorno por su buena disposición para llevar a cabo este trabajo.