

ELIMINACION DE ANTIBIOTICOS POR ORINA Y SALIVA EN RUMIANTES, Y FRECUENCIA DE CONTAMINACION DETECTADA EN ANIMALES SACRIFICADOS EN RASTROS DEL DISTRITO FEDERAL

CARLOS G. HERNANDEZ M.¹

FRANCISCO VELAZQUEZ Q.¹

MARCELO PEREZ D.¹

GRACIELA TAPIA P.²

RESUMEN

Este trabajo se dividió en tres experimentos los cuales junto con sus resultados fueron los siguientes: Experimento 1: Se determinaron los límites de detección en saliva y orina de rumiantes, de estreptomycin, penicilina y tetraciclina, por el método microbiológico de disco en placa con medio PM-I, *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis*, con incubación a 65°C durante 3 1/2 h. Los límites de detección fueron 0.01 U.I./ml (6 ng/ml) de penicilina, 1 mg/ml de estreptomycin y 0.4 mg/ml de tetraciclina. Experimento 2: Por el mismo método se determinó el tiempo de eliminación de los residuos de antibióticos en saliva y orina de borregos, después de la inyección intramuscular de una dosis de cada antibiótico a cada borrego, más un control negativo, sin tratamien-

to. Los antibióticos y dosis administrados fueron: estreptomycin 1g, penicilina 800 000 U.I., tetraciclina 250 mg. Las muestras se tomaron una vez cada 24 h. Los tiempos de eliminación fueron en saliva: tetraciclina, tres días; penicilina y estreptomycin, cuatro días. En orina: estreptomycin 30 días, penicilina 31 días, tetraciclina 45 días. Experimento 3: Se determinó la contaminación por residuos de antibióticos de bovinos sacrificados en cinco rastros del Distrito Federal y su área metropolitana, para lo cual fueron tomadas 40 muestras de la vejiga de las reses en canal de cada rastro. En todos los experimentos se empleó el método microbiológico de difusión de disco en placa, con medio PM-I (Difco) de pH 7.8 e indicador de pH; con la utilización de *Bacillus stearothermophilus* como microorganismo de prueba; incubación a 65°C durante 3 1/2 h. Los análisis mostraron que en todos los rastros hubo animales contaminados con residuos de antibióticos; en los cinco rastros el promedio de bovinos contaminados fue de 67%.

¹ Proyecto Mastitis, Centro de Investigación en Medicina Veterinaria, Sector Pecuario, INIFAP-SARH, Km. 15.5 Carr. México-Toluca, Apdo. Postal 41-652, México, D.F., C.P. 05110.

² Proyecto de Genética Animal, Sector Pecuario, INIFAP-SARH, Km. 15.5 Carr. México-Toluca, Apdo. Postal 41-652, México, D.F., C.P. 05110.

INTRODUCCION

En México los antibióticos han sido empleados por un lado, como tratamiento de enfermedades causadas por microorganismos, en plantas, animales y humanos; y por otro, se han usado con propósitos de producción animal. Buena proporción de antibióticos se utilizan como aditivos de las raciones, con el objeto de aumentar la tasa de ganancia de peso y sacar los animales al mercado en menos tiempo y con menor consumo de alimentos; pero con frecuencia exceden a las proporciones recomendadas por los organismos internacionales, (OMS, No. 260, 1963). Gran cantidad de carne y leche deriva de animales que han ingerido alimentos tratados con quimioterápicos con fines de producción, en proporciones mayores a las indicadas para asegurar que el animal no contendrá residuos, lo que aumenta la posibilidad de que estos productos contaminados lleguen a los consumidores (Kieser, 1976).

En un estudio llevado a cabo en 1980 en el Distrito Federal y su área metropolitana se informó que el 100% de la leche pasteurizada y envasada estaba contaminada con residuos de antibióticos (Velázquez, Pérez y González, 1980). En otro trabajo realizado en la misma región durante 1984, se encontró que el 64% de las muestras de carne, hígado y riñón de bovinos colectadas en carnicerías, estaban contaminadas con residuos de antibióticos (Soto, 1984).

Se ha comprobado que la ingestión de antibióticos puede tener efectos inmediatos o mediatos negativos para la Salud Pública. La penicilina produce sensibilidad, con riesgo de sufrir trastornos alérgicos e incluso choque anafiláctico, que puede llegar a ser mortal, (Calvin, 1968; Goodman y Gilman, 1974; Booth, 1977 y López 1982). La estreptomycinina induce a

hipersensibilidad; algunos autores señalan efectos mutágenos durante el desarrollo del embrión, pero no ha sido comprobado (Goodman y Gilman, 1974 Booth, 1977). La tetraciclina predispone a alergias; ejerce acción inhibitoria sobre el tejido óseo y los dientes, en especial durante la dentición (Booth, 1977; Campbell, y col., 1980; López, 1982; Van Houweling, 1982). Cada vez es más evidente el problema que para la Salud Pública representa la resistencia bacteriana a los agentes quimioterápicos, que se traduce en la pérdida de efectividad de los mismos en el combate de enfermedades microbianas; algunos autores manifiestan su temor a que antibióticos tan eficaces como la penicilina dejen de ser útiles (FAO/OMS, 1961; López, 1982).

Es necesario disponer de procedimientos para detectar la presencia de antibióticos, que permitan identificar animales contaminados de manera rápida, sencilla y económica. Por lo tanto, los objetivos de este trabajo fueron:

- 1) Desarrollar un método microbiológico rápido (como el de difusión de disco en placa) para detectar residuos de antibióticos en muestras de saliva y de orina de rumiantes.
- 2) Efectuar una encuesta en rastros del Distrito Federal y su área metropolitana para evaluar la proporción de animales sacrificados contaminados con residuos de antibióticos.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se desarrolló en el laboratorio de antibióticos del Proyecto Mastitis del Sector Pecuario, INIFAP-SARH. La investigación se dividió en tres experimentos:

Experimento 1: Desarrollo de un procedimiento microbiológico rápido para detectar residuos de antibióticos en saliva y en orina de

bovinos. Se efectuó una adaptación de la técnica rápida de difusión de disco en placa para la detección y valoración de residuos de antibióticos en leche, con *Bacillus stearothermophilus* var. *calldolactis* como microorganismo de prueba y medio PM-I a pH 7.8 con púrpura de bromocresol como indicador de pH (Ouderkirk, 1977; Velázquez y Pérez, 1983). La adaptación consistió en el empleo de orina de bovinos libre de antibióticos (OLA) como diluyente de las dosis de antibióticos en el desarrollo de las curvas estándar; se empelaron discos de papel filtro de 16 mm de diámetro y 1/3 del espesor de los discos S&S de 13 mm. Incubación a 65°C durante 3:15 h. Se tomaron muestras de saliva con el impregnado de lengüetas de papel filtro estériles, y muestras de orina en frascos estériles. Los valores de las repeticiones de cada dosis se expresan como promedio (\bar{X}). Se determinaron los límites de detección por este método para penicilina, estreptomycinina y tetraciclina. Se realizó una prueba de X^2 con tres criterios de clasificación: tiempo de incubación, antibiótico y concentración, con el objeto de encontrar si existía asociación entre esas variables (Everitt, 1980).

Experimento 2: Se midió el tiempo de eliminación de penicilina, estreptomycinina y tetraciclina, por la saliva y por la orina, de borregos inyectados por vía intramuscular con una dosis del antibiótico en prueba (800 000 U.I. de penicilina-procaína, 1 g de estreptomycinina como sulfato y 250 mg de tetraciclina como clorhidrato). Se tomaron muestras de saliva y orina momentos antes del tratamiento y después de éste cada 24 h, hasta obtener dos muestras consecutivas negativas. Un borrego sin tratamiento sirvió como testigo negativo. Los tiempos de eliminación en borregos que por lo general no se mencionan en los

medicamentos, son equivalentes a los tiempos de eliminación en bovinos.

Para determinar diferencias en tiempos de eliminación de los tres antibióticos, se realizó una prueba no paramétrica de rango promedio (Leach, 1982), con la comparación entre las vías de eliminación, orina contra saliva.

Experimento 3: Se efectuó una encuesta en cinco rastros del Distrito Federal y su área metropolitana, se colectaron 40 muestras de orina de la vejiga de bovinos en cada rastro, distribuidas entre el comienzo, la mitad y el final de la matanza del día. Se obtuvo información adicional sobre los animales sacrificados, referentes a raza y lugar de procedencia. Las muestras se colectaron en frascos estériles, se transportaron en hielo y fueron mantenidas en refrigeración normal (4°C) hasta efectuar el ensayo, que por lo regular se hizo en menos de 36 h.

Se realizó una prueba de independencia X^2 para determinar si la concentración de antibióticos era independiente del rastro (Everitt, 1980).

RESULTADOS

Los resultados del Experimento 1 se muestran en el Cuadro 1. Los límites de detección fueron 0.01 UI/ml (6 ng/ml) para penicilina, 1 mg/ml para estreptomycinina y 0.4 mg/ml para tetraciclina. Se encontró una asociación ($P < .001$) de antibiótico con tiempo de incubación y concentración. Esto quiere decir, que de acuerdo al tiempo de incubación y a la concentración, el comportamiento de los diferentes antibióticos no es el mismo. Por otro lado, se encontró que ni la concentración, ni el tipo de antibiótico influyen en el tiempo de incubación ($P > .05$), es decir, que en diferentes tiempos de incubación se tienen resultados equivalentes en cuanto a positivo (+) y negativo (-).

CUADRO 1

TIEMPO DE INCUBACION, ANTIBIOTICO Y CONCENTRACION DE ANTIBIOTICO, CON LA DETERMINACION DE LA ASOCIACION ENTRE ESTOS TRES CRITERIOS Y ESTABLECIMIENTO DEL TIEMPO OPTIMO PARA DETECTAR CONCENTRACIONES MINIMAS DE ANTIBIOTICOS

Tiempo de incubación (horas)	Penicilina (UI/ml)					Estreptomicina (mg/ml)					Tetraciclina(mg/ml)				
	.005	.01	.02	.03	.04	.125	.25	.5	1.0	2.0	.1	.2	.4	.8	1.6
3:00	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
3:05	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
3:10	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
3:15	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
3:20	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
3:30	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+

CUADRO 2

CANTIDADES Y PORCENTAJES DE MUESTRAS DE ORINA DE BOVINOS COLECTADAS DE LA VEJIGA AL MOMENTO DEL SACRIFICIO, POSITIVAS A RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS

R a s t r o	Positivas		Negativas	
	Cantidad	%	Cantidad	%
Ecatepec	21	52.5	19	47.5
Ferrería	20	50.0	20	50.0
La Paz	35	87.5	5	12.5
Netzahualcoyotl	26	65.0	14	35.0
Texcoco	31	77.5	9	22.5
T o t a l	133	66.5	67	33.5

Resultados del Experimento 2. Los tiempos de eliminación de los antibióticos por la saliva fueron: estreptomycin y penicilina cuatro días, tetraciclina tres días; por la orina: estreptomycin 30 días, penicilina 31 días, tetraciclina 45 días.

Se encontraron diferencias significativas entre las vías de eliminación, orina y saliva, ($P < .001$) en los tiempos de eliminación de los tres antibióticos.

Resultados del Experimento 3. Los promedios generales de los residuos de antibiótico de las muestras colectadas en cinco rastros están en el Cuadro 2, donde se aprecia que de las 200 muestras analizadas, 133 fueron positivas (66.5%). En el Cuadro 3 se muestra la relación entre rastro y grado de contaminación. No se encontró ninguna asociación entre el rastro y la concentración de antibióticos detectados ($P > .05$).

Con los datos adicionales obtenidos en los rastros muestreados, respecto a la raza y lugar de procedencia, por Estados federales, se integró el Cuadro 4. Destaca la mayor contaminación del

ganado procedente de San Luis Potosí cruzado en su mayoría.

DISCUSION

Es primordial evitar el consumo de antibióticos a nivel de residuos, a través de los alimentos contaminados. Por lo tanto, cuando los animales reciban antibióticos, ya sea como promotores del crecimiento o como tratamiento de enfermedades bacterianas, no deben ser destinados para el consumo humano hasta que haya transcurrido el tiempo conveniente. El tiempo de eliminación varía entre 20 y 100 días, según el antibiótico, la vía de administración, la cantidad administrada, los órganos o tejidos analizados y la especie animal (Campbell, Canagham y O'Brien, 1980). Un estudio realizado en bovinos evidenció la presencia de residuos de penicilina en el sitio de la inyección y en la orina, 45 días después del tratamiento (Mercer, y col., 1971). Otro estudio realizado por los mismos autores, en el que se

CUADRO 3

RELACION ENTRE RASTRO Y GRADO DE CONTAMINACION DE LA ORINA CON RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS

Rastro	Negativo	+	++	+++	++++	Total
Ferrería	20	3	4	5	8	40
La Paz	5	2	5	13	15	40
Netzahualcoyotl	14	8	3	9	6	40
Ecatepec	19	5	9	7	0	40
Texcoco	9	5	12	12	2	40
Total	67	23	33	46	31	200

Halo de inhibición en mm:	++	22 á 25 mm ($\bar{x} = 23$)
Negativo 18 mm	+++	26 á 30 mm ($\bar{x} = 28$)
+	++++	31 mm ($\bar{x} = 32$)

CUADRO 4

RAZA Y LUGAR DE PROCEDENCIA DE BOVINOS POSITIVOS A RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS, SACRIFICADOS EN CINCO RASTROS DEL DISTRITO FEDERAL Y AREA METROPOLITANA

R a s t r o	R a z a	Edo. de procedencia	Positivos (%)
Ecatepec	Cebú	Veracruz	53
Ferrería	Cebú	Jalisco	50
La Paz	Cruzas	S.L.P.	88
Netzañualcoyotl	Criollo	Chiapas	65
Texcoco	Criollo	México	78

administró dihidroestreptomina combinada con penicilina, mostró la presencia de ambos en los riñones y en el lugar de la inyección, 60 días posteriores al tratamiento. Teske y col., (1972) detectaron residuos de estreptomina en riñones de bovinos 90 días más tarde de ser tratados con dosis única, masiva.

Para evitar que los consumidores ingieran carne contaminada con antibióticos, es necesario que los animales a los que les han sido suministrados se conserven vivos durante el tiempo conveniente, para que ya no contengan residuos detectables. La contaminación por antibióticos fue encontrada tanto en la saliva como en la orina, pero en la primera sólo pudo detectarse durante los primeros tres-cuatro días después del tratamiento (igual que en la sangre o en la leche), por lo que no ofrece muchas condiciones para diferenciar entre animales contaminados y los no contaminados.

En la orina en cambio, se detectó la presencia de antibióticos durante 30-45 días. La presencia de antibiótico en la orina indica que éste todavía se encuentra en el músculo (lugar de la inyección), en el hígado y el riñón, de donde aún se efectúa la eliminación a nivel de residuo. De las 200 muestras colectadas en rastros del Distrito Federal y área metropolitana, resultaron positivas a residuos de antibióticos 67%, proporción muy próxima al 61% encontrado en carne y orina por Kerr (1972), y el 64% notificado por Soto (1984) en carne de bovino.

Estos resultados nos indican que los antibióticos se emplean en forma indiscriminada, sin que se acaten las disposiciones reglamentarias que para tales usos proveen tanto la S.S.A. como la S.A.R.H., en especial a lo concerniente al tiempo que se debe dejar transcurrir desde la aplicación de un tratamiento con antibióticos, hasta antes de enviar un animal tratado al

rastro para así garantizar, como se establece, que no contenga residuos de ningún antibiótico.

CONCLUSIONES

Se puede afirmar que la técnica microbiológica de difusión de disco en placa para detectar residuos de antibióticos en orina de rumiantes, es sensible, rápida y económica, por lo que constituirá una herramienta segura para identificar a los animales contaminados con ellos.

El porcentaje de bovinos sacrificados en el Distrito Federal y su área metropolitana, que se hallaron contaminados con residuos de antibióticos, es muy elevado.

En el análisis estadístico de los resultados:

1) Se observaron diferencias significativas entre los tiempos de eliminación de los tres antibióticos, por las vías de eliminación, saliva y orina.

2) La eliminación de antibióticos tarda mucho más tiempo por la orina que por la saliva.

SUMMARY

This work consisted of three experiments. The objective of the first experiment was to establish the detection limits of penicillin, streptomycin and tetracycline in saliva and urine using the microbiological diffusion disc with Difco PM-I media and *Bacillus stearothermophilus* as test microorganism. The limits were 0.01 I.U./ml (6 ng/ml) for penicillin, 1 mg/ml for streptomycin and 0.4 mg/ml for tetracycline. In the second experiment the elimination time of the same antibiotics in saliva and urine was established. One dose of 800 000 I.U. penicillin, 1 g streptomycin and 250 mg tetracycline were administered intramuscularly to different sheep. In

saliva the elimination time was three days for tetracycline and four days penicillin and streptomycin. In urine it was 30 days for streptomycin, 31 days for penicillin and 45 days for tetracycline. In the third experiment 200 bovine urine specimens were obtained from five slaughterhouses scattered in Mexico City and its suburbs, and tested for antibiotics. It was found 67% of the specimens contained antibiotic residues.

LITERATURA CITADA

BOOTH, N.H., 1977. Drug and chemical residues in the edible tissues of animals. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Edited by Booth, N.H. Mc. Donald L.E. Iowa State University Press, Iowa, USA, p. 1299.

CALVIN, W.S., 1968. *Medicina Veterinaria y Salud Pública*, México, D. F. p. 583.

CAMPBELL, N., CONAGHAM, T. and O'BRIEN, J.J., 1980. Antibiotics in meat: cooking and storage effects. *The Veterinary Record*, 19:237.

EVERITT, B.S., 1960. The analysis of contingency tables. Ed. London. Chapman and Hall, N.Y., USA.

F.A.O., O.M.S., 1961. Unificación de métodos para las pruebas de sensibilidad microbiana. Segundo Informe del Comité de Experimentos en Antibióticos. p. 3.

GOODMAN, L.S. y GILMAN, A., 1974. Bases farmacológicas de la terapéutica, 4a. Ed. *Interamericana*, México, D. F.

KERR, E.E., 1972. Residues facts or fallacies. *Bull. Assoc. Food Drug Off.*, 36:186.

KIESER, J.S., 1976. A perspective on the use of antibiotics in animal feeds. *J. Anim. Sci.* 42:1058.

LEACH, CH., 1982. Fundamentos de estadística. Enfoque paramétrico para ciencias sociales. Ed. *Limusa*, 1a. Ed. España.

LOPEZ, A.J., 1982. Mecanismos bacterianos de resistencia a los agentes quimioterapéuticos en farmacología veterinaria. Ed. *Fuentes*, México, D. F., p. 47.

MERCER, H.D., ROLLINS, L.D., GRAUTH, M.A. and CARTER, G. G., 1971. A residues study and comparison of penicillin and dihydrostreptomycin concentration after intramuscular administration in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 158:776.

O.M.S., 1963. Problemas de Salud Pública relacionados con el uso de antibióticos en los alimentos y en los plenos. Informe Técnico No. 260:7.

OUDEKIRK, L.A., 1977. Detectin of residual penicillin in milk by using a *Bacillus stearothermophilus* disk assay *J. A.O.A.C.* 160 (5):116.

SOTO, R.L., 1984. Residuos de estreptomicina, penicilina y tetraciclina en carne y vísceras de bovinos destinados al abasto en el D. F. y área metropolitana. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot., UNAM. México, D. F.*

TESKE, R.H., ROLLINS, L.D. and CARTER, G.G., 1972. Penicillin and dehidroestreptomycin serum concentration after administration in single and repeated doses to feeder steers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 160:873.

VAN HOUWELING, C.D., 1982. The food drug and cosmetic act. animal drugs, and the consumer. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* p. 411.

VELAZQUEZ, Q.F., PEREZ, D.M. y GONZALEZ, S.R., 1980. Investigación de residuos de antibióticos en leche, pasteurizada y envasada, que se consume en el área metropolitana del Distrito Federal, *Sal. Pub. de México*, 22:91.

VELAZQUEZ, Q.F. y PEREZ D.M., 1983. Evaluación del método rápido para la determinación de residuos de antibióticos en leche. *Mem. de la Reunión de Inv. Pec. en México.*