

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

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a blue background, depicting a figure in a red and white robe. Above the shield is a golden crown with a cross on top. The shield is flanked by two golden lions. The entire emblem is surrounded by a circular border containing the Latin text "ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CAETERA CAROLINA CONSPICUA".

**“DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS
BETALACTÁMICOS Y TETRACICLINAS EN LECHE CRUDA EN
PRODUCTORES DE COOPROLECHE”**

DIANA ELIZABETH MARTÍNEZ HERRERA

GUATEMALA, JULIO DE 2009

ÍNDICE

I. INTRODUCCION.....	1
II. HIPÓTESIS.....	2
III. OBJETIVOS.....	3
3.1 Objetivo general.....	3
3.2 Objetivos específicos	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
4.1 Residuos de antibióticos.....	4
4.2 Consecuencia de la presencia de residuos de antibióticos en leche.....	6
4.3 Niveles de seguridad de antibióticos.....	9
4.4 Control de residuos en leche.....	12
4.5 Snap®, prueba para residuos de antibióticos en leche.....	14
4.5.1 Nuevo Kit Snap® Beta-Lactámicos.....	15
4.5.2 Kit Snap®Tetraciclinas.....	16
4.6 Antibióticos betalactámicos y tetraciclinas.....	17
4.6.1 Antibióticos betalactámicos.....	17
4.6.2 Antibióticos tetraciclinas.....	19
4.7 Uso correcto de antibióticos.....	20
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
5.1 Materiales.....	22
5.1.1 Recursos humanos.....	22
5.1.2 Recursos de laboratorio.....	22
5.1.3 Recursos de campo.....	22
5.1.4 Recursos biológicos.....	23
5.1.5 Centros de referencia.....	23
5.2 Metodología.....	23
5.2.1 Área de estudio.....	23
5.2.2 Diseño de estudio.....	23
5.2.3 Recolección de muestras.....	24
5.2.4 Metodología de la prueba.....	24
5.2.5 Interpretación de la prueba.....	25

5.2.6 Evaluación del manejo de la leche de vacas en tratamiento.....	25
5.2.7 Análisis de resultados.....	26
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
6.1 Análisis según época del año.....	27
6.2 Tipo de manejo de los antibióticos.....	28
6.3 Análisis de las fincas con resultados positivos a residuos de antibióticos en leche.....	29
VII. CONCLUSIONES.....	32
VIII. RECOMENDACIONES.....	33
IX. RESUMEN.....	34
X. BIBLIOGRAFÍA.....	36
XI. ANEXOS.....	39
Figura 1. Reacciones de la prueba Snap®	40
Figura 2. Interpretación de resultados de la prueba Snap®.....	40
Cuestionario 1. Manejo general de la finca.....	41
Cuestionario 2. Prácticas del tratamiento antibiótico.....	42
Cuestionario 3. Listado de chequeo de prevención de residuos de antibióticos en leche.....	43
CUADRO 1. Muestras positivas y negativas a residuos de antibióticos por muestreo en distintas épocas del año.....	44
CUADRO 2. Muestras positivas y negativas a residuos de betalactámicos por muestreo en distintas épocas del año.....	44
CUADRO 3. Muestras positivas y negativas a residuos de tetraciclinas por muestreo en distintas épocas del año.....	45
CUADRO 4. Tipos de antibióticos inyectables comúnmente utilizados en vacas de ordeño por finca.....	45
CUADRO 5. Tipos de antibióticos intrauterinos comúnmente utilizados en vacas de ordeño por finca.....	46
CUADRO 6. Tipos de antibióticos para tratamiento intramamario de mastitis comúnmente utilizados en vacas en lactación por finca	46

CUADRO 7. Tipos de antibióticos para tratamiento intramamario comúnmente utilizados en vacas secas por finca.....	47
CUADRO 8. Clasificación de las fincas según el manejo de los antibióticos...	47
CUADRO 9. Muestras positivas y negativas por finca a residuos de Antibióticos por muestreo y producción diaria de leche en distintas épocas del año.....	48
GRAFICA 1. Muestras positivas y negativas a residuos de antibióticos.....	49
GRAFICA 2. Clasificación de las fincas según el manejo de los antibióticos..	49

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente la industria lechera está evolucionando por las exigencias del mercado internacional y nacional, que requiere cumplir con normas regulatorias para el uso de medicamentos en los animales; entre los que se incluyen antibióticos y otros fármacos. Los residuos de antibióticos en leche provocan problemas en la industrialización, pues dificultan la elaboración de lácteos fermentados y son un riesgo para la salud humana.

Los médicos veterinarios deben velar que los productores de leche tengan la responsabilidad de comercializar leche sin residuos de antibióticos. Es importante en salud pública, concientizar a los productores los riesgos que representan los residuos en leche y qué medidas preventivas se deben tomar en cuenta para que no se presenten.

El presente trabajo se realizó en 16 fincas de productores de la Cooperativa Integral de Producción de Leche de Guatemala, Responsabilidad Limitada – COOPROLECHE, R. L. - ubicadas en los departamentos de Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Jutiapa, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa. Estos entregan su leche a 5 distintas plantas procesadoras de lácteos, el ordeño en todas las fincas es mecánico y la leche es almacenada en tanques de enfriamiento, cada una produce en promedio alrededor de 900 litros de leche diarios. Las pruebas realizadas reaccionan con residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche. El trabajo pretende evaluar la presencia de antibióticos en leche en algunas fincas que comercializan su leche a plantas procesadoras de lácteos que son destinadas para el consumo humano.

II. HIPÓTESIS

La leche cruda analizada de COOPROLECHE no presenta residuos de medicamentos antibióticos betalactámicos y tetraciclinas.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

- Contribuir al conocimiento de la presencia de residuos de antibióticos en leche de vaca.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar la presencia de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda a través de un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas - ELISA- tipo competitivo de fase sólida de las fincas pertenecientes a COOPROLECHE.
- Evaluar el manejo de medicamentos antibióticos en las vacas de las fincas de COOPROLECHE.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Residuos de antibióticos

Los residuos son producidos por el uso de productos químicos en la granja, entre los cuales podemos encontrar residuos de medicamentos veterinarios, detergentes, desinfectantes, pesticidas y micotoxinas. El residuo es toda sustancia química o biológica que al ser administrada o consumida por el animal, se elimina y/o permanece como metabolito en la leche, carne o huevos con efectos nocivos para el consumidor. Entre los medicamentos que dejan residuos en leche están los antiinflamatorios, antiparasitarios, antimicrobianos y sustancia anabolizantes. (14,21)

Fabre, *et al* (1995) citado por Knappstein, Suhren y Walte (2004), encontraron que las causas más frecuentes de residuos en leche se dan 64% por tratamiento de mastitis, 24% por tratamiento de secado, 3% por higiene de la ubre, 1% por antiparasitarios, 1% por limpieza de equipo de ordeño y 11% por otras enfermedades. (11,14)

Los antibióticos son sustancias que tienen la propiedad de inhibir procesos metabólicos de las bacterias, bien sea destruyéndolas o inhibiendo su reproducción. Estos se utilizan para tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas y como estimulantes del crecimiento. Cuando se utilizan como agentes terapéuticos se administran durante un corto período de tiempo (1-7 días) y en dosis altas; y en algunos casos se usan dosis bajas durante períodos prolongados de la vida del animal cuando se usan como promotores de crecimiento. Los antibióticos más utilizados son penicilina, tetraciclina, neomicina, bacitracina y estreptomina. (17)

Existen varios factores a considerar en cuanto a la presencia de residuos de antibióticos en leche como el tiempo de retiro, la producción de leche del animal y la frecuencia de ordeño. Una vaca alta productora de leche y con ordeño frecuente, acorta el tiempo de eliminación del antibiótico pues permite que el medicamento se diluya. Los animales de menor producción tardan más en eliminar el medicamento, al igual que los enfermos. El tiempo de retiro se define como el tiempo que transcurre entre la última administración y el momento en que la leche se encuentra en concentraciones iguales a los niveles de tolerancia de la droga en cuestión. Un día de retiro representa un día completo de 24 horas comenzando luego del último tratamiento. El tiempo de retiro debe figurar en forma clara y precisa en la etiqueta de todos los preparados comerciales, este varía según la vía de administración del medicamento, como se observa en el Tabla 1. (11,13,17)

Tabla 1. Períodos de retiro de algunos antibióticos utilizados en ganado lechero por diferentes vías de administración

INGREDIENTE ACTIVO	PERÍODO DE RETIRO EN LECHE
Ampicilina inyectable	48 horas
Ampicilina intramamaria	72 horas
Penicilina sódica inyectable	48 horas
Penicilina procaínica inyectable, intramamaria	96 horas
Penicilina benzatínica	9 días
Cloxacilina benzatínica intramamaria	25-30 días
Moxicilina inyectable L.A.	96 horas
Oxitetraciclina inyectable HCL	96 horas
Oxitetraciclina L.A.	14 días
Oxitetraciclina inyectable	9 días
Oxitetraciclina tabletas uterinas	96-112 horas
Gentamicina inyectable	48 horas
Estreptomina inyectable	48 horas
Canamicina inyectable	48 horas

Fuente Zurich (21)

Es importante tomar en cuenta la vía de administración utilizada. La vía por la que más se contamina la leche es por las infusiones intramamarias, en segundo lugar por el tratamiento con inyectables y el tercero por tratamientos intrauterinos. Al utilizar una terapia local es común que algunos productores usen varias dosis en los animales afectados con la finalidad errónea de acelerar la recuperación del animal; esto solo genera un aumento de residuos en la leche. Al dar un tratamiento intramamario se debe recordar que no solamente la leche del cuarto tratado se contamina; se ha observado que la actividad antibiótica de los cuartos vecinos no tratados permanece la mitad del tiempo que la del cuarto tratado. (3,13)

El uso de antibióticos fuera de las indicaciones recomendadas en la etiqueta es una de las razones de positividad en las pruebas que detectan residuos de antibióticos en leche. Existe una gran influencia en la dosis aplicada, el producto usado y los días de lactación sobre el tiempo de retiro de la leche. Un mal almacenamiento de las infusiones intramamarias a una alta temperatura puede provocar la excreción prolongada de residuos; esto se debe probablemente a cambios en la homogeneidad y viscosidad del medicamento. (5,11)

4.2 Consecuencia de la presencia de residuos de antibióticos en leche

Aunque los residuos se perciban en los alimentos en baja concentración es posible que la ingestión regular de pequeñas cantidades de una misma sustancia pueda determinar manifestaciones tóxicas en el humano; ya sea a largo plazo o por efectos acumulativos. Los efectos tóxicos directos son producidos con diversas manifestaciones clínicas como toxicidad en riñón, hígado, sangre, médula, oído,

efectos teratogénicos, carcinogénicos y alergias graves. El cloranfenicol puede llegar a provocar una anemia aplásica en el hombre por lo que varios países han prohibido el uso de éste. Los indirectos están asociados a fenómenos de resistencia bacteriana y reacciones alérgicas. Además los antibióticos en leche pueden inducir alteración de la flora intestinal, desarrollo de microorganismos patógenos y reducción de la síntesis de vitaminas. (4,17)

Alrededor de 3 a 10% de la población humana tiene reacciones de hipersensibilidad a las penicilinas. Una cantidad tan baja como 0.01 UI/ml puede causar una reacción alérgica a una persona muy sensible, pero varía con el individuo y el tipo de alimento, pues éste puede afectar la absorción de la droga. Las reacciones de hipersensibilidad más frecuentes son erupciones cutáneas. Puede presentarse fiebre leve, leucopenia, artrología o artritis grave, hemorragias cutáneas, linfadenopatía, esplenomegalia, edema generalizado, albuminuria y hematuria. Es poco común que se desencadene un fenómeno anafiláctico severo en pacientes sensibles por comer alimentos contaminados con residuos. Éste se caracteriza por producir una broncoconstricción con asma grave, dolor abdominal, náuseas, vómitos, debilidad extrema, hipotensión arterial y diarrea. (3,7, 21)

Las penicilinas y tetraciclinas de amplio espectro erradican la flora normal y predisponen a la colonización y superinfección de especies oportunistas resistentes a los antibióticos. (10)

La frecuente exposición a pequeñas cantidades de antibióticos a través de la leche crea resistencia a las bacterias involucradas en infecciones de enfermedades que afectan a los humanos. Esta resistencia se hace más fácil cuando se dan antibióticos como promotores en la ración pues se dan dosis subterapéuticas por

tiempo prolongado y se ven afectadas todas las bacterias tanto a las que va dirigido el tratamiento como a las que no. (13,14)

La toxicidad puede ser inducida por ingestión continua de leche con residuos de tetraciclinas, sobre todo cuando se usaron preparados de larga acción sin respetar el periodo de retiro. La tetraciclina en lactantes o niños en estado de desarrollo óseo y dentario acelerado puede determinar alteraciones de estos sistemas por sus propiedades quelantes de calcio y la formación de un complejo tetraciclina-ortofosfato de calcio. Una característica temprana de este defecto es la fluorescencia amarilla en el pigmento dental, que luego es reemplazado por el color marrón no fluorescente que puede presentar un producto de oxidación del antibiótico cuya formación es acelerada por la luz. Cuando mayor es la dosis en relación al peso corporal más intensa es la decoloración del esmalte. (7,17,21)

Los dientes anteriores se afectarán si la embarazada se expone desde la mitad del embarazo a los 4 o 6 meses del período postnatal. Puede aparecer pigmentación en la dentición permanente si el fármaco se da entre las edades de 2 meses y 5 años, cuando se produce la calcificación de estos dientes. Sin embargo es posible que esta complicación se dé aún en los niños de 8 años de edad. Las tetraciclinas se depositan en el esqueleto durante la gestación y la infancia. Se ha demostrado una depresión de 40% en el crecimiento óseo en los lactantes prematuros expuestos. (7)

Los residuos de antibióticos también afectan la elaboración de lácteos fermentados y acarrearán pérdidas económicas. Los estreptococos lácticos y las bacterias de los cultivos iniciadores del yogurt son muy sensibles a los antibióticos

comúnmente usados en el ganado, pues provocan una falla en la fermentación cuando se usa leche contaminada. (1,19)

Las características organolépticas del producto como aroma, textura y sabor pueden verse afectadas. Este último puede tornarse amargo por una excesiva acción del cuajo. En la mantequilla el aroma también puede verse alterado. El yogurt se caracteriza por adquirir una consistencia arenosa. Es necesario resaltar que los residuos de antibióticos pueden enmascarar los controles microbiológicos de la leche y por lo tanto los resultados serán erróneos. Además éstos no son eliminados por tratamientos térmicos como la pasteurización, esterilización o ultrapasteurización (UHT). De acuerdo con algunos estudios realizados la penicilina pierde solamente 8% de su actividad luego de la pasteurización y 50% con la esterilización. La ebullición de la leche destruye 66% de residuos de estreptomicina y 90% de residuos de tetraciclinas. (13,14,17,19)

La presencia de antibióticos en leche es sancionado por el gobierno de varios países desarrollados y en vías de desarrollo desde hace varios años. Al encontrar residuos se puede sancionar al productor, afectar el pago por calidad y/o descartar la leche. Existen compañías grandes en Guatemala que realizan pruebas para verificar que no existen residuos en leche, pero gran parte de la leche que se consume en el país no está vigilada. (14,20)

4.3 Niveles de seguridad de antibióticos

Los niveles de seguridad de antibióticos también se conocen como niveles de tolerancia o límite máximo de residuos (LMR). La concentración segura o LMR es el

contenido de un medicamento que se considera admisible en un producto alimenticio; esta es la concentración que se considera que no constituye ningún riesgo para la salud humana. La unidad utilizada para el LMR de los medicamentos es partes por billón (ppb), que equivale a microgramos por kilogramo ($\mu\text{g}/\text{kg}$). (3,14)

Los niveles de tolerancia en alimentos en EEUU son determinados por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA), en el que el LMR para penicilinas es de 5 ppb. En la Unión Europea existe un Consejo Regulatorio que establece los niveles de tolerancia siendo el LMR de penicilinas de 4 ppb. Molina (2005) nombra los LMRs de algunos medicamentos veterinarios (Tabla 2) según el Reglamento CEE 2377/90. (6,12,14)

Tabla 2. Límites máximos de residuos (LMRs) de antibióticos en leche

Antibiótico	($\mu\text{g}/\text{kg}$ * = ppb**) permitidas
Bencilpenicilina	4
Ampicilina	4
Amoxicilina	4
Cloxacilina	30
Oxacilina	30
Ceftiofur	100
Tetraciclina	100
Oxitetraciclina	100
Clortetraciclina	100
Espiramicina	200
Estreptomicina	200
Enrofloxacina	100
Eritromicina	40
Tilosina	50
Gentamicina	100
Neomicina	500
Cloranfenicol	0

* $\mu\text{g}/\text{kg}$ = microgramos/ kilogramo

**ppb = partes por billón

Fuente Molina, M.P. (14)

La contaminación de un tanque de enfriamiento de leche se puede dar por la leche de una vaca en tratamiento de antibiótico. Por ejemplo, una vaca con 10 litros (lt) de producción tratada con penicilina elimina residuos en leche a una concentración de 100,000 ppb. Si esta leche se mezclara accidentalmente con 100 lt de leche disminuiría su concentración a 10,000 ppb y si fuera en 1,000 lt de leche la concentración sería de 1,000 ppb. La concentración segura de la penicilina no se alcanzaría ni con 100,000 lt de leche, pues aún allí tendría 10 ppb de penicilina. (14,21)

En el Tabla 3 se muestra el riesgo de excederse del LMR en tanques de enfriamiento y por lo tanto de ser positivos a pruebas de inhibidores microbianos al mezclar leche de vacas en tratamiento. (11)

Tabla 3. Riesgo de contaminar la leche a una concentración LMR al mezclar la leche de vacas tratadas con antibiótico

<i>Antibiótico</i>	<i>LMR en leche ($\mu\text{g}/\text{kg}$)*</i>	<i>Concentración de leche del cuarto tratado** ($\mu\text{g}/\text{kg}$)</i>	<i>Volumen para contaminar 10 litros de leche en el próximo ordeño (ml)</i>	<i>Volumen para contaminar 1000 litros en el tanque de enfriamiento (ml)</i>
Penicilina G	4	400,000	0.1	10
Ampicilina	4	100,000	0.4	40
Nafcilina	30	20,000	15	1500
Cefquinoma	20	20,000	10	1000
Diestreptomicina	200	30,000	67	6700
Colistina	50	30,000	17	1700

* $\mu\text{g}/\text{kg}$ = microgramos / kilogramo

**La mayor concentración en leche después de tratar los 4 cuartos.

Fuente Knapstein, Suhren y Walte (11)

El mayor riesgo es de la penicilina, pues existen grandes concentraciones de ella en la leche después de un tratamiento intramamario; mientras el LMR es

bastante bajo. Después de darse tratamientos con antibióticos, la mezcla accidental de leche de una vaca en tratamiento lleva a la contaminación del tanque de enfriamiento a concentraciones superiores de los LMRs. (11)

4.4 Control de residuos en leche

Existen distintos tipos de pruebas que permiten monitorear la presencia de antibióticos en leche cercanos a los LMR; la clasificación del Código Alimentario (CODEX ALIMENTARIUS) del año 1993 las agrupa en tres niveles. En el nivel uno están los métodos de cribado, los cuales tienen una gran capacidad de procesar muestras pero son inespecíficos pues solo detectan la presencia o ausencia de inhibidores. El tiempo de incubación es de varias horas por lo que su resultado es retrospectivo. El más conocido es el Delvotest[®] que se utiliza como prueba definitiva en el Reino Unido y los resultados positivos deben confirmarse con otro tipo de prueba. Figueroa (1980) y Aguilera (1981) utilizaron este método para determinar residuos de antibióticos en leche en Guatemala, pero actualmente la prueba no está disponible por laboratorios nacionales. (2,5,14,15)

En el nivel dos se encuentran los métodos identificativos o de confirmación preliminar. Estos son semicuantitativos pues detectan niveles con respecto al LMR y sustancias específicas o familias de antimicrobianos. Se dividen en métodos inmunoenzimáticos (ELISA, Radioinmunoensayo-RIA-, Penzym[®]) y métodos de unión de receptores (Charm[®], Beta-Star y Snap[®]). En el nivel tres están los métodos de confirmación definitiva que confirman la presencia inequívoca de sustancias antimicrobianas a través de métodos físico-químicos que cuantifican concentraciones

determinadas en ppb. Entre estos se menciona la cromatografía de gases (CG), la cromatografía en capa fina (TLC) y la cromatografía líquida (HPLC), siendo ésta última la más usada. (14)

La variedad de pruebas existentes traen un nuevo dilema a la industria lechera entre la especificidad de las pruebas a los antibióticos y su sensibilidad a éstos. Además, la industria debe decidir si las pruebas que realizarán a sus proveedores serán de un amplio rango de sustancias pero con resultado retrospectivo o si se debe utilizar una prueba rápida para detectar solamente los antimicrobianos comúnmente encontrados. (15,18)

En el Tabla 4 se muestra una evaluación de la FDA de algunos métodos de cribado con seis antibióticos de la familia de betalactámicos, pero sólo las pruebas que detectaran cuatro de los seis antibióticos se usarían para pruebas oficiales. Se muestra que no todas las pruebas detectaron todos los antibióticos en sus LMR. La prueba Charm II[®] por ejemplo, detectó residuos de cefapirina muy por debajo de su LMR permitido y esto podría provocar que leche que no causa daños a la salud humana se rechace. (18)

Tabla 4. Niveles de detección de residuos de antibióticos de los métodos de cribado (ppb*)

Antibióticos	Charm II [®] Tableta Cuantitativa	Charm Test Granja [®]	Delvo Test P	Lactek B-L [®]	Penzym	Snap Test [®]	LMR por FDA
Penicilina	4.8	5	3	5	5	5	5
Ampicilina	8	10	10	8	10	10	10
Amoxicilina	10	10	8	10	8	10	10
Cloxacilina	10	--	--	8	--	--	10
Cefapirina	4.5	20	8	16	8	8	20
Ceftiofur	23	25	50	50	--	50	50

*ppb = partes por billón

Fuente Rushing y Wesen (18)

4.5 Snap[®], prueba para residuos de antibióticos en leche

El Snap[®] es un ensayo tipo ELISA competitivo de fase sólida, prueba rápida para detección de residuos de antibióticos de alta sensibilidad y especificidad. Para la prueba de residuos de antibióticos en leche ocurren esencialmente dos reacciones independientes:

Punto de muestra-ensayo competitivo.

- A. La muestra de leche se mezcla con el reactivo conteniendo el complejo proteína-enzima; el cual se ligará al antibiótico presente en la leche.
- B. El dispositivo tiene una proteína específica inmovilizada que se ligará con los pocos antibióticos aún libres en la muestra.
- C. Si la muestra contiene analitos de antibióticos se ligarán con el complejo proteína-enzima en el tubo.
- D. La calidad de la muestra puede contener componentes no objetivos, los cuales se eliminan con un lavado único que tiene el dispositivo.
- E. El color se desarrolla en el dispositivo cuando el complejo enzima-anticuerpo se oxida y lo precipita al agente incoloro, dando el azul.

Punto control

- A. La muestra de leche se mezclará con el reactivo conteniendo el complejo anticuerpo enzima en el tubo.
- B. El punto control del dispositivo tiene el antígeno correspondiente inmovilizado.
- C. Sucede una reacción directa del conjugado anticuerpo-enzima + antígeno inmovilizado en el punto de control.

D. La calidad de la muestra puede contener componentes no objetivos, los cuales se eliminarán con el lavado único que tiene el dispositivo.

E. El color consistente se desarrolla en el dispositivo sin importar la concentración de analitos de antibióticos presentes. (12)

Ver Figura 1 en Anexos.

4.5.1 Nuevo Kit Snap[®] Beta-Lactámicos

El Nuevo Kit Snap[®] Beta-Lactámicos es sensible a los siguientes antibióticos betalactámicos: penicilina G, amoxicilina, ampicilina, ceftiofur y cefapirina (Tabla 5). La ampicilina, ceftiofur, cefapirina y penicilina han demostrado una sensibilidad a este Kit de 90/95 %. (8,12)

Tabla 5
Sensibilidad de Nuevo Kit Snap[®] Beta-Lactámicos

ppb*	Amoxicilina	Ampicilina	Ceftiofur	Cefapirina	Penicilina
1					7%
2				0%	37%
3					93%
4	20%	37%		0%	100%
5			87%		100%
6	70%	100%			
8	100%	100%		0%	
10	100%	100%	100%		
12				100%	
20			100%	100%	
Niveles seguros (ppb)	10	10	50	20	5

*ppb = partes por billón

Fuente Idexx Laboratories[®] (8)

Esta prueba también es sensible por reacción cruzada a la cloxacilina, dicloxacilina, ticarcilina y el cefadroxil (Tabla 6). Detecta cloxacilina en un nivel superior a los niveles de tolerancia establecidos. (8,12)

Tabla 6. Reacción cruzada del Nuevo Kit Snap® Beta-Lactámicos

Antibiótico	10 ppb*	50 ppb	100 ppb
Cloxacilina	0%	100%	100%
Dicloxacilina	0%	100%	100%
Ticarcilina	0%	100%	100%
Cefadroxil	100%	100%	100%

*ppb = partes por billón

Fuente Idexx Laboratories® (8)

4.5.2 Kit Snap® Tetraciclinas

El Kit Snap® Tetraciclinas detecta residuos de tetraciclina, clortetraciclina y oxitetraciclina en leche (Tabla 7). Los límites de detección de la prueba son menores que el nivel seguro de tetraciclina y clortetraciclina, esto puede provocar el rechazo de leche que es considerada segura para consumo humano. Se recomienda que un resultado positivo sea analizado posteriormente usando una prueba cuantitativa específica. (12)

Tabla 7. Sensibilidad de Kit Snap® Tetraciclina

ppb*	Tetraciclina	Clortetraciclina	Oxitetraciclina
20	100%		
30		100 %	100 %
Niveles seguros (ppb)	100	100	100

*ppb = partes por billón

Fuente Idexx Laboratories® (12)

4.6 Antibióticos betalactámicos y tetraciclinas

4.6.1 Antibióticos betalactámicos

Las penicilinas y cefalosporinas actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular de la bacteria y esta se rompe como resultado de su relativa hiperosmolaridad interior. Los betalactámicos poseen una concentración menor del 20% en leche de la que tienen en el plasma y su concentración residual es baja debido a su rápida eliminación. Éstos pueden antagonizar el efecto de la acción bacteriostática de amino glucósidos, clorfenicol, eritromicina y tetraciclinas. La concentración sérica de la penicilina puede aumentarse por uso de ácido acetilsalicílico, indometacina y fenilbutazona. En Dinamarca un estudio en 1999 reveló que el 95% de los tratamientos intramamarios (IMM) son de betalactámicos, pues son preferidos por llegar sólo a nivel tisular. (12,20)

El tiempo de retiro varía según el tipo de betalactámico y el vehículo utilizado. Se recomienda un vehículo liposoluble para secado de las vacas pues permanecerá más tiempo en la ubre que una presentación con un vehículo acuoso, que podría usarse para un tratamiento clínico de mastitis. La penicilina G sódica y la penicilina G potásica se absorben vía intrauterina dando lugar a residuos detectables en leche hasta por 12 horas. (13,20)

Tiene una mayor persistencia en leche la penicilina G procaínica y se debe retirar ésta hasta una semana después de su última inyección, pero en algunos países se retira hasta por 14 días. La FDA tiene tolerancia 0 de residuos de penicilina G benzatínica por lo que no se recomienda su uso en vacas lecheras. El tiempo de

retiro de esta última varía de 20 a 30 días, debido a que posee una duración muy larga pero sus valores plasmáticos son pequeños. (6,20)

La oxacilina y la cloxacilina tienen un tiempo de retiro de 4 ordeños, siempre y cuando no se utilice un vehículo oleoso. Se utiliza nafcilina en tratamiento de mastitis y profiláctico en secado de vacas, pero se elimina gran cantidad en leche. Vacas en tratamiento de mastitis con carbenicilina pueden tener el doble de concentración de antibiótico que aquellas que no están padeciendo la enfermedad. Por otra parte, la ampicilina tiene un período de retiro en leche de 48 horas cuando se ha dado como tratamiento IMM. Existen combinaciones de amoxicilina con ácido clavulánico para mastitis, en presentación inyectable el tiempo de retiro es de 25 días en carne y 96 horas en leche. En infusión IMM el retiro de amoxicilina en leche es de 60 horas. (16,20)

Las cefalosporinas han mostrado que con una sola dosificación local se logra que la actividad del fármaco perdure al menos 72 horas post dosificación y alcance el objetivo terapéutico sin encontrar residuos 3 días post terapia. (3)

Después de administrar cefazolina sódica vía IMM los residuos en leche son menores de 50 ppb a la séptima ordeña y menores de 25 ppb a la octava ordeña. Para el tratamiento de mastitis se utiliza la cefapirina sódica con período de retiro en leche de 72 horas y la cefapirina benzatínica para el secado de vacas con 30 días de retiro en leche. Aunque la cefalexina no se ha encontrado en residuos en leche después de su administración intramuscular (IM) o IMM, se recomienda un retiro por seguridad de 24 a 48 horas. (6,20)

No todas las cefalosporinas interactúan de manera negativa con los amino glucósidos; tal es el caso de la ceftriaxona que posee un efecto sinérgico contra

algunas bacterias que normalmente son resistentes. El período de retiro en leche de la ceftriaxona y la cefoperazona va de 24 a 48 horas. (11,20)

El ceftiofur sódico es la cefalosporina más utilizada en veterinaria, pero por su costo no se le recomienda como primera opción en muchas infecciones. En EEUU, éste no posee tiempo de retiro en carne o leche. En Australia el tiempo de retiro en carne es de 1 día y para leche 0. En Inglaterra, el ceftiofur sódico tiene un tiempo de retiro en carne de bovino de 8 horas y en carne de cerdo es de 12 horas, mientras que si se administra clorhidrato de ceftiofur el tiempo de retiro en carne de cerdo será de 5 días. (6,20)

4.6.2 Antibióticos tetraciclinas

Las tetraciclinas ingresan al microorganismo por difusión pasiva y por un proceso de energía dependiente de transporte activo. Una vez dentro de la célula se unen reversiblemente a las subunidades 30s de los ribosomas bacterianos, bloqueando la unión de la aminoacil-tRNA al sitio aceptor sobre el complejo ribosomal del mRNA; esto impide la síntesis proteica. (7,10)

Las tetraciclinas se excretan por leche y se ha encontrado casi la mitad de la concentración en leche respecto a la cifra plasmática. Son compatibles fármaco dinámicamente con las sulfonamidas, la tilosina y la tiamulina. La utilidad clínica de las tetraciclinas de corta duración, como la clortetraciclina, oxitetraciclina y tetraciclina, dependen de su capacidad de llegar a los tejidos afectados. La tetraciclina puede ser muy irritante por vía IM. Debido a que la clortetraciclina también es irritante por esta vía, se utiliza como premezcla para el tratamiento de

enfermedades como anaplasmosis, enteritis o neumonías bacterianas, pododermatitis o para aumentar la eficiencia alimenticia. (20)

En la terapéutica veterinaria la oxitetraciclina es la tetraciclina más usada ya sea en presentación de larga acción o de acción intermedia. La farmacocinética de ésta varía de modo considerable pues existen diferentes vehículos y formulaciones en el mercado. El retiro de leche en la ordeña debe de ser de por lo menos 2 días, pero en presentaciones de larga acción éste puede ir de 3 a 6 días. Cuando se administra vía IM el tiempo de retiro en carne no debe ser menor a 1 mes. La doxicilina alcanza cifras bactericidas óptimas al administrarse vía parenteral con el efecto combinado de una tetraciclina amortiguada en infusión IMM. (11,20)

4.7 Uso correcto de antibióticos

Es importante verificar toda la información de la etiqueta antes de administrar el medicamento; su uso en ganado lechero, enfermedades para el cual está indicado, dosis, vía de administración, lugar de almacenamiento y fecha en que vence el producto. Si se utiliza el medicamento fuera de lo indicado en la etiqueta debe hacerse con la supervisión del veterinario. El tratamiento a los animales debe basarse en el diagnóstico y la respuesta esperada al tratamiento. El tiempo de retiro debe ser respetado. (16,21)

Un manejo adecuado prevendrá la contaminación de la leche con residuos de antibióticos de leche de vacas tratadas. Para esto debe llevarse un registro de los tratamientos que se realizan procurando que las vacas en tratamiento puedan ser claramente reconocidas. El registro debe incluir la identificación del animal, nombre

del medicamento, dosis administrada, fecha de tratamiento y período de retiro. Todo el personal involucrado en el ordeño debe estar informado de cuáles son las vacas en tratamiento. Éstas deben ser ordeñadas de último y con equipo de ordeño diferente o a mano para asegurar que la leche contaminada no entre al sistema. (16)

Suhren (2002) citado por Knappstein, Suhren y Walte (2004), señala entre 0.03 % y 0.14% de pruebas positivas a inhibidores microbianos en tanques de enfriamiento de leche en países europeos en el 2000. En Guatemala, Figueroa (1980) obtuvo 32.8% de residuos de antibióticos en leche en un período de 5 meses y Aguilera (1981) señala 6.61% de residuos en época seca. (2,5,11)

En los años 1986-1988 Scällibaum (1990) citado por Knappstein, Suhren y Walte (2004), determinó que las principales razones de contaminación del tanque de enfriamiento de leche se deben 36.5% a las siguientes razones: mezclar leche de vacas tratadas, poca comunicación entre los ordeñadores, fallas en el ordeño, fallas en el tratamiento o al ordeñar vacas que acababan de terminar su tratamiento de secado. El 29.7% se dio por mal ordenamiento de las vacas al ser ordeñadas y 29.3% por mala limpieza de la unidad de ordeño. Se dio contaminación por sobre los LMR después de retirar la leche 3.1% y 1.4% por error del veterinario. (11)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Recursos humanos

- Estudiante investigador que realizó las pruebas con una prueba rápida de campo.
- Asesores de la investigación
- Encargado de finca y/o ordeñadores

5.1.2 Recursos de laboratorio

- Hielera
- Muestreador de leche de acero inoxidable
- Calentador Snap[®]
- Pipeta de 450 μ L +/- 50 μ L
- Tubo de ensayo con pastilla reactivo de betalactámicos
- Snap[®] de residuos de betalactámicos en leche cruda
- Tubo de ensayo con pastilla reactivo de tetraciclinas
- Snap[®] de residuos de tetraciclinas en leche cruda

5.1.3 Recursos de campo

- Equipo de oficina (computadora, papel bond)
- Vehículo
- Fichas de campo

5.1.4 Recursos biológicos

48 muestras de leche fueron analizadas en total, de estas se hicieron tres por finca en diferentes épocas del año.

5.1.5 Centros de referencia

- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad San Carlos de Guatemala
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
- Ministerio de Salud
- Cámara de Productores de leche de Guatemala
- Agrobiotek
- Internet

5.2 Metodología

5.2.1 Área de estudio

El estudio se realizó en 16 fincas de la COOPROLECHE ubicadas en los siguientes departamentos: Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Jutiapa, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa.

5.2.2 Diseño de estudio

Se define como un estudio descriptivo de corte longitudinal prospectivo para lo cual el primer muestreo se hizo en época seca (enero–abril), el segundo a principio de la época lluviosa (mayo) y el último durante la época lluviosa (junio-octubre).

5.2.3 Recolección de muestras

Se realizó el muestreo en el tanque de enfriamiento de cada finca, para luego proceder a realizar la prueba en la misma. Primero se agitó la leche del tanque de enfriamiento y luego se recolectaron 5 ml de leche de la finca con el muestreador de leche. Esta muestra sirvió para la realización de la prueba inmediatamente.

5.2.4 Metodología de la prueba

La determinación de residuos de antibióticos se hizo mediante una prueba ELISA para la detección de residuos de antibióticos betalactámicos y otra para la detección de tetraciclinas denominada Snap[®] de Idexx Laboratorios, Inc[®].

5.2.4.1 Preparación de la muestra

- Se conectó el calentador Snap[®] hasta alcanzar la temperatura de 45°C.
- Se recolectaron 450 μ L +/- 50 μ L de la leche con la pipeta para verterla dentro del tubo de ensayo que contiene la pastilla con el respectivo reactivo.
- Se agitó el tubo de ensayo hasta disolver la pastilla.
- Se incubó la muestra en el tubo de ensayo con la pastilla reactiva de betalactámicos por 5 minutos dentro del calentador y 2 minutos la muestra en el tubo de ensayo con la pastilla reactiva de tetraciclinas.

5.2.4.2 Realización de la prueba

- Pasado el tiempo de incubación de cada muestra se vertió la muestra en el pozo de muestra y se esperó a que iniciara un flujo lateral de la muestra hasta el círculo de activación.
- Cuando comenzó a desaparecer el punto de activación azul, se activó el dispositivo para romper los tanques con conjugados.
- Se esperaron cuatro minutos mientras se coloreaba la ventana de resultados.

5.2.5 Interpretación de la prueba

La lectura de resultados se realizó colocando del lado derecho el área que fue presionada. Las lecturas de los resultados se hicieron de la siguiente manera:

- *Negativo:*

Cuando el punto de control (arriba) es más claro o igual al color del punto de muestra (abajo).

- *Positivo:*

Cuando el punto de la muestra (abajo) es más claro que el punto control (arriba).

Ver Figura 2 en Anexos.

5.2.6 Evaluación del manejo de la leche de vacas en tratamiento

Se realizaron cuestionarios para obtener información general del manejo de las fincas (Cuestionario 1), las prácticas de tratamiento antibiótico (Cuestionario 2) y los métodos de prevención de residuos de antibióticos en leche (Cuestionario 3). Ver cuestionarios en Anexos.

Al obtener un resultado positivo en la prueba de residuos de antibióticos betalactámicos o tetraciclinas se notificó de una vez al encargado y se buscó la posible causa de contaminación de la leche, ese día.

5.2.7 Análisis de resultados

Se determinó la presencia o ausencia de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda. Los resultados se expresaron por medio de distribuciones porcentuales y la prueba de asociación de *Xi Cuadrado*.

Las variables analizadas fueron los tipos de antibióticos usados (Cuestionario 2) y el tipo de manejo que se les dio a las vacas en tratamiento (Cuestionario 1 y 3).

Se estableció cuales son los antibióticos más utilizados en vacas en ordeño, con mastitis y vacas en periodo de secado.

Se determinó el manejo que se les da a las vacas con tratamiento antibiótico y si este está acorde para prevenir los residuos de antibióticos en leche. Estos se clasificaron en excelente, bueno, regular y malo según el puntaje de correctas que obtuvieron del Cuestionario 3. Esta clasificación se realizó de la siguiente forma:

Excelente	100% a 90%
Bueno	89% a 70%
Regular	69% a 50%
Malo	49% a 0%

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se recolectaron un total de 48 muestras de leche del tanque de enfriamiento de la COOPROLECHE en distintas épocas del año 2007; las cuales fueron, época seca (enero-abril), al inicio de la época de lluvia (mayo) y en la época de lluvia (junio-octubre). De este total de muestras; el 87,5% (n= 42) dieron resultado negativo a la prueba de detección de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas y dieron positivo 12,5% (n= 6) utilizando la prueba de ensayo tipo ELISA competitivo de fase sólida denominado Snap[®]. (Cuadro 1)

En los cuadros 2 y 3 se presentan los resultados para la detección de antibióticos betalactámicos en leche cruda de los productores objeto del estudio. Del total de muestras el 2,08% (n=1) fue positiva a residuo de betalactámicos y el 10,42% (n=5) fueron positivas a residuos de tetraciclinas. (Grafica 1)

6.1 Análisis según época del año

Al realizar el análisis de la relación entre época y la detección de antibióticos se encontró lo siguiente:

No se encontró asociación estadística entre la época del año y la presencia de antibiótico ($P>0,18$). Tampoco se encontraron asociaciones de la época con el tipo de antibiótico, betalactámicos y tetraciclinas ($P>0,36$) y ($P>0,21$) respectivamente.

6.2 Tipo de manejo de los antibióticos

Con respecto a los tipos de antibióticos utilizados en el objeto de estudio; se pudo determinar el uso de 14 distintos tipos de antibióticos pertenecientes a cuatro grupo de antibióticos. El antibiótico inyectable más utilizado es el ceftiofur sódico pues se usa en 81,25% (n=13). La penicilina G benzatínica, procaínica, potásica en combinación con el sulfato de estreptomicina es el segundo antibiótico más usado y se encontró en 56,25% (n=9). La oxitetraciclina LA (larga acción) es el tercer antibiótico más usado en 50% (n=8) de las fincas. (Cuadro 4)

Los antibióticos intrauterinos más utilizados son la cefapirina benzatínica con 12.5% (n=2) y la nistatina, metronidazol en combinación con la oxitetraciclina. Sin embargo algunas veces los productores optan por realizar tratamientos intrauterinos con otros productos que son quimioterapéuticos. (Cuadro 5)

Los antibióticos más usados para el tratamiento intramamario de mastitis en vacas en lactación son en primer lugar la amoxicilina en combinación con el ácido clavulánico en 25% (n=4) de las fincas. En segundo lugar con un 18,75% (n=3) se encuentran la eritromicina en combinación con diestreptomicina y la sulfadiazina con trimetropin. En tercer lugar con 12,5% (n=2) se usó la tetraciclina en combinación con neomicina y bacitracina; clorhidrato de lincomicina; y la combinación de penicilina procaínica con sulfato de estreptomicina y sulfato de neomicina.

Como se observa en el cuadro 6; los betalactámicos son el tratamiento de elección para el tratamiento de mastitis en vacas en lactación en varias fincas. Sin embargo solo un 25% de las fincas utiliza cefalosporinas que tienen un tiempo reducido o nulo de retiro de la leche.

Los antibióticos más utilizados como tratamiento de vacas secas es la cloxacilina benzatínica con 25 % (n=4), seguida por la combinación de esta con trihidrato de ampicilina con 18,75% (n=3). (Cuadro 7)

En la cuadro 8 y Gráfica 2 se presentan los resultados de la clasificación de las fincas según manejo de los antibióticos para evitar la presencia de residuos de estos en la leche. Ningún manejo se considero excelente, el 25 % de los productores obtuvieron un puntaje bueno; el 31% se considero regular y el 44% malo.

6.3 Análisis de las fincas con resultados positivos a residuos de antibióticos en leche

Como información adicional se puede comentar lo siguiente:

En la finca **M** en época de inicio de lluvia se produjeron 1243 litros de leche el día del muestreo y se administró oxitetraciclina vía intramuscular para el tratamiento de Piroplasmosis a 4 vacas, 5 días antes de la prueba. El producto que normalmente se usa en la finca para este fin tiene 4 días de retiro de la leche, el cual se cumplía el día que se realizó el muestreo por lo que la leche de esas vacas ya estaba siendo mezcladas con el resto de la leche; sin embargo el trabajador había usado otra oxitetraciclina con 7 días de retiro, por lo que es la posible causa de un resultado positivo.

En la finca **C** al inicio de época de lluvia el día del muestreo se produjeron 1394 litros de leche y 2 ordeños antes se había dado tratamiento antimastítico con amoxicilina en combinación con ácido clavulánico a 2 vacas y se retiró la leche

únicamente de los cuartos afectados y la de los otros cuartos se mezcló con el resto de la leche, por lo que dio un resultado positivo a residuos de betalactámicos.

La finca **P** al inicio de época de lluvia produjo 559 litros de leche el día del muestreo y se había dado dos días antes tratamiento antimastítico a 2 vacas con tetraciclina en combinación con neomicina y bacitracina, pero la leche se retiró únicamente un día. Esta misma finca en época de lluvia el día del muestreo produjo 300 litros de leche y ese día estaban en tratamiento dos vacas con el mismo antibiótico y no se retiró la leche de estos animales. Estas son las posibles razones por lo que en ambas ocasiones la finca tuvo un resultado positivo a residuos de antibióticos de Tetraciclinas.

En la finca **D** al inicio de época de lluvia se encontraban 3 vacas en tratamiento de mastitis con clorhidrato de lincomicina intramamario y no se había retirado la leche de éstas. Sin embargo las pruebas utilizadas no tenían sensibilidad para este tipo de antibiótico por lo que los resultados de las pruebas fueron negativos. En época de lluvia esta finca produjo 880 litros de leche el día del muestreo y se encontraban 4 vacas en tratamiento antimastítico con tetraciclina en combinación con neomicina y bacitracina intramamario y espiramicina inyectado, por lo que el resultado de la prueba fue positivo.

En la finca **H** al inicio de época de lluvia habían 2 vacas en tratamiento con norfloxacinina inyectado, pero el resultado de las pruebas fue negativo por no tener sensibilidad al grupo de las quinolonas. En época de lluvia se produjeron 700 litros de leche el día del muestreo y 2 vacas habían sido tratadas 8 días antes con oxitetraciclina de larga acción y su leche no había sido retirada, por lo que hubo un resultado positivo a residuos de tetraciclinas. (Cuadro 9)

Es de hacer notar que para las condiciones del presente estudio el dispositivo de ELISA competitivo utilizado presentó una alta sensibilidad y especificidad para ambos tipos de antibióticos (tetraciclinas y betalactámicos). Por ejemplo los niveles de detección para oxitetraciclina del dispositivo es a partir de 30 ppb, lo cual todavía es seguro para el consumidor ya que el LMR (Límite Máximo de Residuos) es de 100 ppb (partes por billón).

VII. CONCLUSIONES

- Se encontró que el 87,5% de las fincas fueron negativas a los residuos de antibióticos en leche. El 2,08% del total de las muestras de leche analizadas resultaron positivas a los residuos de betalactámicos y el 10,42% fueron positivas a residuos de tetraciclinas.
- Los antibióticos inyectables más utilizados son el ceftiofur sódico (81,25%); la pencilina G benzatínica, procaínica, potásica en combinación con sulfato de estreptomina (56,25%) y oxitetraciclina LA (50%).
- El antibiótico más utilizado para tratamiento intramamario en vacas en lactación es amoxicilina en combinación con ácido clavulánico en 25% y el más utilizado en vacas secas es la cloxacilina benzatínica en 25%.
- Según la clasificación realizada para el tipo de manejo de los antibióticos en cada finca se determinó que el 44% de las fincas tienen un manejo malo, 31% regular, 25% bueno y 0% excelente.
- Se determinó que se administran otros antibióticos como la lincomicina y norfloxacin, pero éstos no pudieron ser detectados por la prueba para residuos de antibióticos en leche, utilizado en la presente investigación.

VIII. RECOMENDACIONES

- Capacitar al personal que está involucrado en el tratamiento con antibióticos de vacas productoras de leche, sobre el manejo adecuado de éstos; para disminuir los residuos de antibióticos en leche que pueden repercutir en la salud del consumidor.
- Implementar en las fincas medidas prácticas para disminuir los residuos de antibióticos en leche como lo son la identificación de los animales al ser tratados con antibióticos, llevar registro de éstos y cumplir con el tiempo de retiro.
- Para garantizar la inocuidad y calidad de la leche se recomienda realizar otro estudio que determine los residuos de antibióticos en leche con un espectro mayor y usando tanto métodos cualitativos como cuantitativos, para poder detectar otros antibióticos como la lincomicina y norfloxacina.

IX. RESUMEN

El presente estudio se realizó en 16 fincas de la Cooperativa COOPROLECHE, en distintas épocas del año, haciendo un total de 48 muestras de leche. Se determinó la presencia de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda a través de una prueba ELISA. Se encontró que el 87,5% de las muestras fueron negativas a residuos de antibióticos y el 12,5% fueron positivas. El 2,08% fueron positivas a antibióticos betalactámicos y 10,42% a tetraciclinas. No se encontraron asociaciones estadísticas significativas entre época y la presencia de residuos ($P>0,18$).

Los antibióticos inyectables más utilizados son ceftiofur sódico 81,25%; penicilina benzatínica, procaínica, potásica en combinación con sulfato de estreptomicina 56,25% y oxitetraciclina de larga acción 50%. Los tratamientos antimastíticos más usados en vacas en lactación fueron 25% amoxicilina en combinación con ácido clavulánico y la cloxacilina benzatínica 25% en vacas secas.

Se clasificaron las fincas por el tipo de manejo de los antibióticos en donde se determinó que el 44% de las fincas tienen un manejo malo, 31% regular, 25% bueno y 0% excelente.

SUMMARY

The study was done in 16 farms of the COOPROLECHE, in different seasons of the year, making a total of 48 samples of milk. The presence of betalactams and tetracyclines residues in raw milk was established through ELISA test. The 87,5 % of the samples were negative to residues in milk and 12,5% were positive. It was found that 2,08% were positive to betalactams residues and 10,42% to tetracyclines. It was no significant statistic association between de season and the presence of residues ($P \geq 0,18$).

The parental antibiotics most used are ceftiofur sodium 81,25%; benzathine, procaine, potassium penicillin in combination with streptomycin sulph 56,25% and oxitetracycline long action 50%. The antimastitic treatments more used for cows in lactation are 25% amoxicillin in combination with clavulanic acid and cloxacillin benzathine 25% in dried cows.

The farms where classified according to the type of management given to antibiotics, and it was established that 44 % of the farms have a bad management, 31 % regular, 25% good and 0% excellent.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Alais, C. 1981. Ciencia de la leche. México, Continental. p. 318-319
2. Aguilera, C. 1981. Determinación de residuos de sustancias inhibidoras (antibióticos), durante un período de la época seca en leche cruda que ingresa a Prolac. Tesis Lic. Zoot. Guatemala, GT, USAC/FMVZ. 15 p.
3. Carreto, L. 2005. Impacto de la presencia de antibióticos en leche (en línea). Ponencia presentada en el 5° taller Panamericano de Laboratorios Lácteos. Consultado 22 sep. 2006. Disponible en http://www.infoleche.com/Fepale/relac/documentos/Carreto_ATB%20EN%20LECHE.pdf
4. Doyle, EM. 2006. Residuos de medicamentos veterinarios en carnes procesadas (en línea). EEUU, Universidad de Wisconsin. Consultado 1 abr. 2008. Disponible en http://www.wisc.edu/fri/briefs/FRIBrief_VetDrgRes.pdf
5. Figueroa, R. 1980. Determinación de residuos de antibióticos en leche cruda suministrada a la pasteurizadora La Moderna, S. A. Tesis Lic. Med. Vet. Guatemala, GT, USAC/FMVZ. 19 p.
6. Flores Toro, A. 2006. Tratamiento de mastitis con antibióticos de corto período de retiro (en línea). México, Laboratorios Virbac®. Consultado 22 sep. 2006. Disponible en <http://www.webveterinaria.com/virbac/news6/bovinos.pdf>
7. Goodman Gilman, A; et al. 1993. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8 ed. México, Médica Panamericana. p. 1052,1087
8. Iddex Laboratories®. 2003. Nuevo Kit Test Snap® Beta-Lactámicos (en línea). EEUU. Consultado 23 nov. 2006. Disponible en <http://www.idexx.com/dairy/>

[snap/newsnapinstructions.pdf](#)

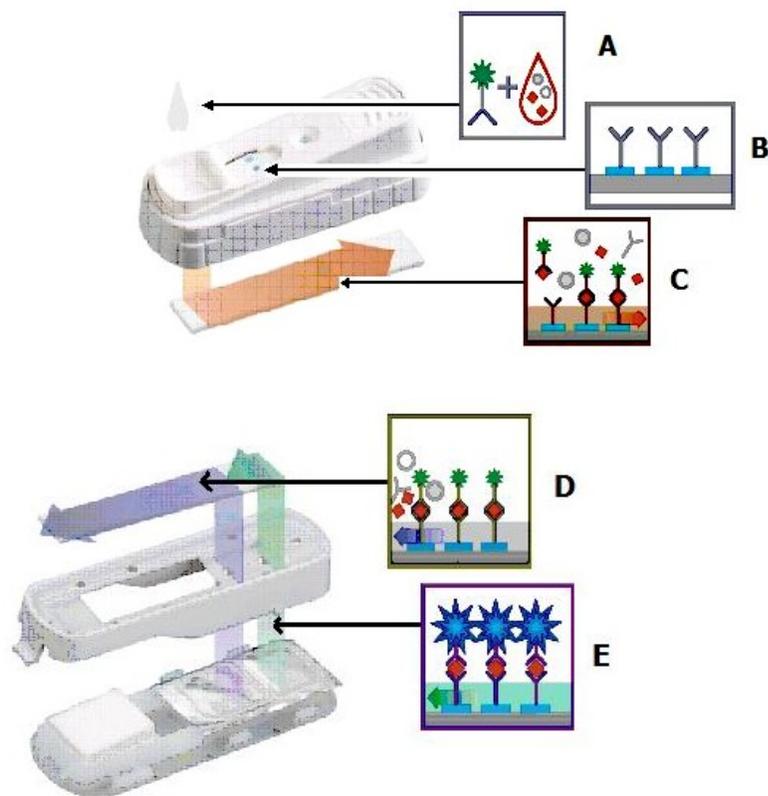
9. Jones, GM. 1999. Previniendo residuos de antibióticos en leche y selección de vacas para ordeño (en línea). EEUU, Universidad de Virginia. Consultado 23 nov. 2006. Disponible en <http://www.ext.vt.edu/pubs/dairy/404-403/404-403.html>
10. Katzung, BG. 2005. Farmacología básica y clínica. Trad. I Monteon. 9 ed. México, Manual moderno. p. 738,751
11. Knappstein, K; Suhren, G; Walte, H. 2004. Prevención de residuos de antibióticos (en línea). UE, Implicaciones de la introducción de ordeño automático en fincas lecheras. Consultado 23 nov. 2006. Disponible en <http://www.automaticmilking.nl/Projectresults/Reports/DeliverableD12.pdf>
12. Lobo O'Donnell, S. 2007. Prueba Snap[®] y Lector SnapShot[®], detección de residuos de antibióticos en leche (en línea). Idexx Laboratorios[®]. Consultado 27 ago. 2007. Disponible en sonia-lobo@idexx.com
13. Magariños, H. 2000. Producción higiénica de la leche cruda; Capítulo 6, Contaminación de la leche por antibióticos. Guatemala, Producción y Servicios Incorporados. p. 20
14. Molina Pons, MP. 2005. Presencia de residuos en la leche; control y prevención (en línea). España, Universidad Politécnica de Valencia. Consultado 10 ago. 2007. Disponible en http://minnie.uab.es/~veteri/21266/Le_Conferencia05_PMolina_Residuos%20y%20trazabilidad%20leche_vop.pdf
15. Neaves, P. 2006. Monitoreando antibióticos en leche, el mundo cambiante de métodos de prueba (en línea). Consultado 10 ago. 2006. Disponible en

<http://www.iah.bbsrc.ac.uk/BMC/1999/Papers%20&%20posters%201999/Neaves.doc>

16. Papadopoulos, G; Hoeksema, I. 2006. Antibióticos en leche (en línea). Holanda, Universidad Wageningen. Consultado 4 dic. 2006. Disponible en http://www.pdq.wur.nl/NR/rdonlyres/7CBB3D28-A569-43A9-9533-3A9A9E45F1D0/30978/topic_fqm_antibiotics.pdf
17. Parra Trujillo, MH. et al. 2003. Los residuos de medicamentos en leche, problemática y estrategias para su control (en línea). Colombia, Corpoica. Consultado 31 mar. 2008. Disponible en http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/20061024154510_control%20estrategico%20residuos%20medicamentos%20en%20la%20leche.pdf.
18. Rushing, J; Wesen, D. 2006. Previniendo residuos de antibióticos en leche (en línea). EEUU, NC State University. Consultado 22 sep. 2006. Disponible en <http://www.ces.ncsu.edu/depts/foodsci/ext/pubs/antibioticresidues.html>
19. Spreer, E. 1991. Lactología industrial. Trad. OD Torres. 2 ed. España, Acribia. p. 28-31
20. Sumano, H; Ocampo, L. 2006. Farmacología veterinaria. 3 ed. México, Mc Graw-Hill. p. 169-207, 235-247, 830-832
21. Zurich, L; San Martín, B. 1994. Residuos antimicrobianos en leche (en línea). Chile, Monografías de Medicina Veterinaria. Consultado 31 mar. 2008. Disponible en http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_comp leta/0,1421,SCID%253D18265%2526ISID%253D451,00.html

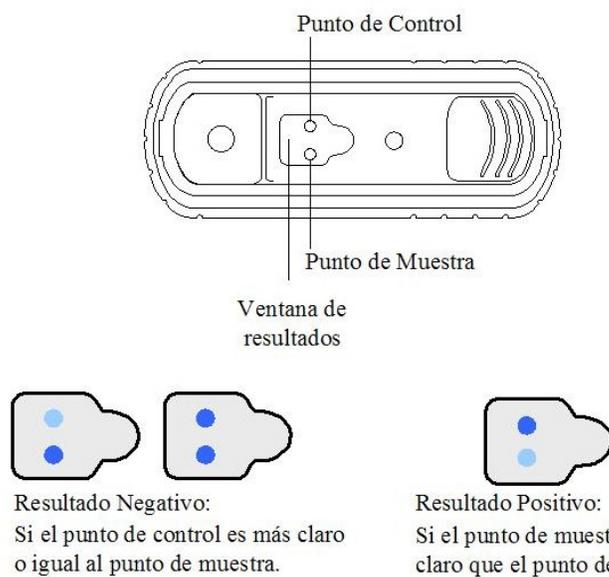
XI. ANEXOS

Figura 1. Reacciones de la prueba Snap®



Fuente Lobo O'Donnell (12)

Figura 2. Interpretación de resultados de la prueba Snap®



Fuente Lobo O'Donnell (12)

Cuestionario 1. Manejo general de la finca

1. Ubicación de la finca _____
2. Resultado de la prueba a tetraciclinas _____
3. Resultado de la prueba a betalactámicos _____
4. Número de vacas en ordeño _____
5. Número de ordeños _____
6. Litros de leche producidos por día _____
7. Litros promedio de leche por vaca _____
8. Recibe asistencia veterinaria _____
9. Tiempo de retiro de la leche de vacas tratadas con antibiótico

10. Enfermedad donde utiliza frecuentemente el antibiótico

11. Antibiótico de su elección más utilizado

12. Frecuencia del tratamiento y dosis

13. Tipo de combinaciones en el tratamiento con antibiótico

14. Terapéutica a usar en una mastitis persistente

15. Tratamientos utilizados en los últimos 5 días

 - a. Vía de administración _____
 - b. Dosis _____
 - c. Número de tratamientos _____
 - d. Persona encargada _____

Cuestionario 3. Listado de chequeo de prevención de residuos de antibióticos en leche

1. Registro de vacas enfermas
 SI NO _____
2. Registro de tratamientos realizados a vacas
 SI NO _____
3. Registro de tiempo de retiro de la leche de vacas tratadas
 SI NO _____
4. Identificación de las vacas tratadas con antibiótico
 SI NO _____
5. Las vacas tratadas con antibiótico son ordeñadas de último
 SI NO _____
6. Las vacas tratadas con antibiótico se ordeñan a mano o una unidad diferente para no contaminar el resto de la leche
 SI NO _____
7. Destino de la leche de vacas tratadas con antibiótico:
 Se revuelve con el resto Se desecha Se da a los terneros
8. Al dar tratamiento antimastítico intramamario se retira la leche del cuarto tratado
 SI NO _____
9. Al dar tratamiento antimastítico intramamario se retira la leche de los cuartos no tratados
 SI NO _____
10. Las vacas tratadas con antibiótico al momento de ordeño son identificadas.
 SI NO _____
11. La leche se retira según lo indicado por la etiqueta del producto
 SI NO _____
12. Se medica el alimento de las vacas en ordeño
 SI NO _____
13. La persona que realiza los tratamientos se encuentra en la sala de ordeño
 SI NO _____
14. Al dar tratamiento con antibióticos se siguen las indicaciones:
 Indicadas por el veterinario Indicadas en la etiqueta
 Fuera de la etiqueta Se utilizan combinaciones

CUADRO 1. Muestras positivas y negativas a residuos de antibióticos por muestreo en distintas épocas del año; Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda de productores de COOPROLECHE; Guatemala julio 2009.

	Época seca		Inicio de lluvia		Época lluviosa		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Positiva	0	0	3	18,75	3	18,75	6	12,5
Negativa	16	100	13	81,25	13	81,25	42	87,5
TOTAL							48	100

N= número de muestras
%=porcentaje

CUADRO 2. Muestras positivas y negativas a residuos de betalactámicos por muestreo en distintas épocas del año; Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda de productores de COOPROLECHE; Guatemala julio 2009.

	Época seca		Inicio de lluvia		Época lluviosa		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Positiva	0	0	1	6,25	0	0	1	2,08
Negativa	16	100	15	93,75	16	100	47	97,92
TOTAL							48	100

N= número de muestras
%=porcentaje

CUADRO 3. Muestras positivas y negativas a residuos de tetraciclinas por muestreo en distintas épocas del año; Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda de productores de COOPROLECHE; Guatemala julio 2009.

	Época seca		Inicio de lluvia		Época lluviosa		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Positiva	0	0	2	12,5	3	18,75	5	10,42
Negativa	16	100	14	87,5	13	81,25	43	89,58
TOTAL							48	100

N= número de muestras

%=porcentaje

CUADRO 4. Tipos de antibióticos inyectables comúnmente utilizados en vacas de ordeño por finca; Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda de productores de COOPROLECHE; Guatemala julio 2009.

Grupo	Antibióticos	%	#
Betalactámicos	Penicilina G Benzatinica, Procaínica, Potásica + Sulfato de Estreptomina	56,25	9
	Bencilpenicilina	37,5	6
	Amoxicilina LA	25	4
	Amoxicilina 200 mg	6,25	1
	Amoxicilina trihidrato + Gentamicina	6,25	1
	Trihidrato de Ampicilina	6,25	1
	Cefalexina Monohidrato	12,5	2
	Ceftiofur Sódico	81,25	13
Quinolonas	Enrofloxacina	43,75	7
	Norfloxacina	6,25	1
	Danofloxacina	6,25	1
Tetraciclinas	Oxitetraciclina LA	50	8
	Oxitetraciclina 100 mg	43,75	7
Mácolidos	Espiramicina	18,75	3

% = porcentaje

= número de muestras

mg = miligramos

LA = larga acción

Fuente: elaboración propia

CUADRO 5. Tipos de medicamentos comúnmente utilizados vía intrauterina en vacas de ordeño por finca; Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda de productores de COOPROLECHE; Guatemala julio 2009.

Grupo	Medicamento	%	#
Betalactámicos	Cefapirina benzatinica (IU)	12,5	2
Tetraciclinas	Nistatina + Oxitetraciclina + Metronidazol (IU)	12,5	2
Otros	Nitrofuranos	37,5	6

IU = intrauterino

% = porcentaje

= número de muestras

Fuente: elaboración propia

CUADRO 6. Tipos de antibióticos para tratamiento intramamario de mastitis comúnmente utilizados en vacas en lactación por finca; Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda de productores de COOPROLECHE; Guatemala julio 2009.

Tipos	Antibióticos	%	#
Tetraciclinas	Tetraciclina + Neomicina + Bacitracina	12,5	2
Betalactámicos	Amoxicilina + Ácido Clavulánico	25	4
	Penicilina Procainica + Sulfato de Estreptomina + Sulfato de Neomicina	12,5	2
	Cloxacilina Sódica + Ampicilina Sódica	6,25	1
	Cefalexina + Gentamicina	6,25	1
	Cefalexina Monohidrato	6,25	1
	Cefapirina Sódica	6,25	1
Otros	Lincomicina Clorhidrato	12,5	2
	Eritromicina + Diestreptomina	18,75	3
	Sulfadiazina + Trimetopin	18,75	3
	Espiramicina + Neomicina	6,25	1

IU = Intrauterino

% = porcentaje

= número de muestras

Fuente: elaboración propia

CUADRO 7. Tipos de antibióticos para tratamiento intramamario comúnmente utilizados en vacas secas por finca; *Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda de productores de COOPROLECHE; Guatemala julio 2009.*

Antibióticos	%	#
Tilosina	12,5	2
Cloxacilina Benzatinica	25	4
Cloxacilina Benzatinica + Ampicilina Trihidrato	18,75	3
Penicilina G Benzatinica, Procaínica, Potásica + Sulfato de Estreptomycinina	12,5	2
Cefapirina benzatínica	6,25	1

% = porcentaje

= número de muestras

Fuente: elaboración propia

CUADRO 8. Clasificación de las fincas según el manejo de los antibióticos; *Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda de productores de COOPROLECHE; Guatemala julio 2009.*

Tipo de manejo	%	#
Excelente	0	0
Bueno	25	4
Regular	31,25	5
Malo	43,75	7
Total	100	16

% = porcentaje

= número de muestras

Fuente: elaboración propia

CUADRO 9. Muestras positivas y negativas por finca a residuos de antibióticos por muestreo y producción diaria de leche en distintas épocas del año; Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda de productores de COOPROLECHE; Guatemala julio 2009.

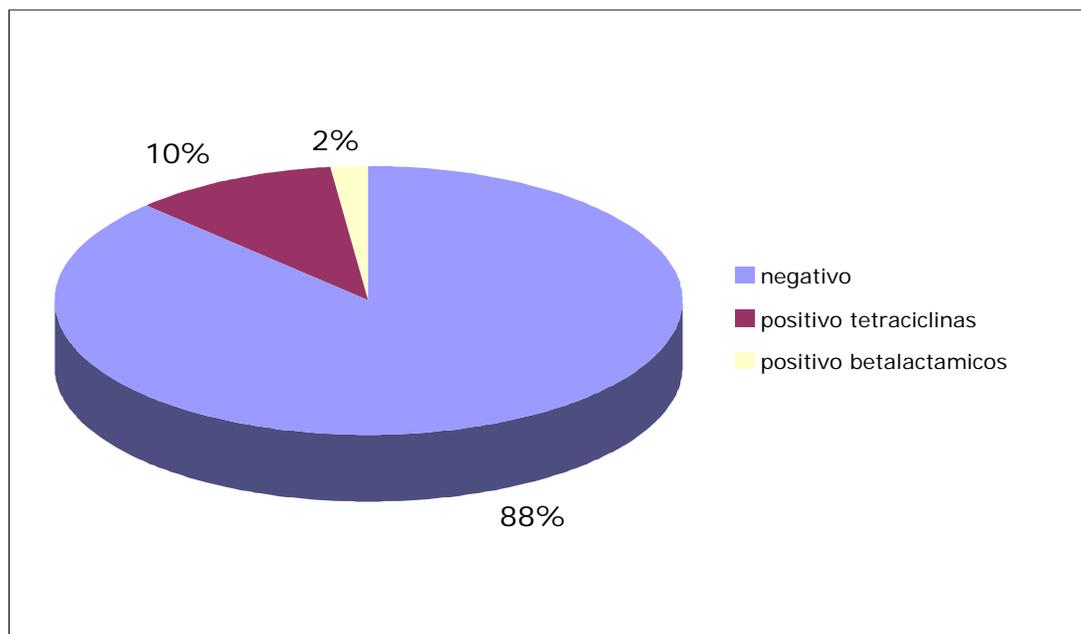
Finca	Época seca			Inicio de lluvia			Lluvia		
	Lt	B	T	Lt	B	T	Lt	B	T
A	1227	-	-	1196	-	-	677	-	-
B	1046	-	-	802	-	-	626	-	-
C	1399	-	-	1394	+	-	1041	-	-
D	992	-	-	982	-	-	880	-	+
E	651	-	-	800	-	-	650	-	-
F	413	-	-	470	-	-	371	-	-
G	1300	-	-	1200	-	-	1233	-	-
H	220	-	-	690	-	-	700	-	+
I	1125	-	-	1011	-	-	800	-	-
J	575	-	-	500	-	-	490	-	-
K	600	-	-	700	-	-	550	-	-
L	650	-	-	600	-	-	620	-	-
M	950	-	-	1243	-	+	700	-	-
N	2159	-	-	2312	-	-	2101	-	-
O	638	-	-	605	-	-	426	-	-
P	561	-	-	559	-	+	300	-	+

Lt = litros

B = Betalactámicos

T = Tetraciclinas

GRAFICA 1. Muestras positivas y negativas a residuos de antibióticos;
Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda de productores de COOPROLECHE; Guatemala julio 2009.



GRAFICA 2. Clasificación de las fincas según el manejo de los antibióticos;
Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en leche cruda de productores de COOPROLECHE; Guatemala julio 2009.

