UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

Situación actual de residuos de fármacos veterinarios en alimentos de origen animal en el Perú

TESINA

Para optar el Título de Médico Veterinario

AUTOR

Patricia Fabiola Gómez Ramos

LIMA – PERÚ
2014

DEDICATORIA

A Dios por guiarme y darme fortaleza.

A mis padres Rodolfo y Teresa con todo mi cariño y amor, por su enorme e invalorable apoyo en mi desarrollo personal y profesional, por confiar en mí y brindarme los mejores consejos.

A mis hermanos Cristhiams, Juan y Chris por ser mi fuente de inspiración y motivo para ser cada día mejor.

A mis tíos por su respaldo e invalorable consejo.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por motivarme siempre, por apoyarme, aconsejarme y respaldarme en mis decisiones

A mis amigos (as) por sus consejos y leal amistad.

A mi Director por su apoyo y constancia.

CONTENIDO

Índice		i
Resumen		iv
Summary		v
Lista de figuras		vi
Lista de cuadros		vii
Abreviaturas		viii
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
1.	PRINCIPIOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE RIESGO DE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS.	4
1.1	Metodología de análisis de riesgo de residuos d e medicamentos veterinarios en alimentos.	7
1.1.1	Estudios Toxicológicos. Nivel de Efecto No Observable (NOEL). Ingesta Diaria Admisible (IDA).	13
1.1.2	Estudios Toxicológicos Generales: estudio de dosis repetida, estudio de reproducción, estudio mutagenicidad.	16
1.1.3	Estudios microbiológicos.	18
1.1.4	Estudios a lo largo plazo, carcinogenicidad.	23
1.2	Límite Máximo de Residuos de Medicamentos Veter inarios (LMR).	25

1.2.1 Protocolo para el establecimiento del Límite Máximo de Residuos (LMR). 27
1.2.2 Comparación de los LMR del Codex y otras organizaciones internacionales. 29
1.2.3 Extrapolación del Límite Máximo de Residuos. 30

1.3 Estudios Farmacocinéticas. 32

1.3.1 Estudios de depleción en tejidos y determinación del periodo de retiro. 34
1.3.2 Estudio del Metabolismo. 38

2. ASPECTOS REGULATORIOS DE RESIDUOS DE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS 40

2.1 Monitoreo de residuos de medicamentos veterinarios. 41

2.2 Compuestos a incluir en los programas de monitoreo de residuosde medicamentos veterinarios. 43

2.2.1 Compuestos con Límite Máximo de Residuos. 44
2.2.2 Sustancias prohibidas. 60

2.3 Normatividad de la Comunidad Andina. 65

2.4 Normatividad sobre residuos de medicamentos veterinarios en el Perú. 66

2.4.1 Normatividad nacional de inocuidad alimentaria. 66
2.4.2 Registro de medicamentos veterinarios en el Perú. 69
2.5 Estudios y programas de monitoreo de residuos de medicamentos 79

veterinarios en el Perú.

3. METODOS DE ANÁLISIS DE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS. 84

3.1 Métodos de screening. 85

3.1.1 Ensayo Ligado a Inmunoabsorbente-ELISA. 86
3.1.2 Cromatografía en capa fina (TLC). 88
3.1.3 Métodos microbiológicos 89

3.2 Métodos cuantitativos. 91

3.2.1 Cromatografía Liquida de Alta Performance (HPLC). 92
3.2.2 Cromatografía de Gas (GC) 93

3.3 Métodos confirmatorios. 94

3.3.1 Cromatografía Liquida acoplada a espectrómetro de Masa (LC-MS). 96
3.3.2 Cromatografía de Gas acoplada a espectrómetro de masa (GC-MS). 97

III. CONCLUSIONES 98

IV. BIBLIOGRAFIA 100

Resumen

El uso de fármacos veterinarios cumple un rol importante en la productividad animal, facilitando la producción de alimentos de alto valor nutritivo, sin embargo, el uso inapropiado, inadvertido e ilegal puede causar la aparición de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de consumo humano. Los organismos mundiales de referencia consideran a los residuos de fármacos en alimentos de origen animal como un factor de riesgo en la salud pública y limitante en el desarrollo económico de cualquier país. Estas razones junto con el avance de metodologías analíticas cada vez más sensibles, han hecho que los requisitos de sanidad e inocuidad exigidos en los alimentos sean cada vez más estrictos, especialmente cuando el destino de los productos es la exportación. La presente revisión, expone aspectos importantes relacionados con la presencia de residuos de medicamentos veterinarios en alimentos de origen animal: la evaluación de riesgo, los efectos potenciales sobre la salud humana, aspectos regulatorios (normatividad nacional e internacional), los métodos de análisis más comunes con los cuales pueden ser detectados y el estado actual de la investigación y control de estos residuos en Perú.

Palabras clave: Fármacos veterinarios, residuos, evaluación de riesgo y regulación.

Summary

The use of veterinary drugs plays an important role in animal productivity, facilitating the production of high nutritional value of food, however, an inapropiate use, unnoticed and illegal can cause that veterinary drug residues appear in food for human consumption. Global reference agencies consider drug residues in food of animal origin as a risk factor in limiting the public health and economic development of any country. These reasons with the advance of increasingly sensitive analytical methodologies have made the health and safety requirements required in food more increasingly stringent, especially when the destination of the products is exported. This review exposes several aspects related to the presence of residues of veterinary drugs in animal foods: risk assessment, the potential effects on human health, regulatory issues (national and international standards), the most common methods of analysis with which they can be detected and the current state of research and control of these residues in Peru.

Key words: Veterinary drugs, waste, risk assessment and regulation.

LISTA DE FIGURAS

- **Figura N° 1:** Componentes del análisis de riesgo 11
- **Figura N° 2:** Utilización de los datos de estudios de depleción para la determinación del LMR 35
- **Figura N° 3:** Fórmulas estructurales de algunas Sulfonamidas 45
- **Figura N° 4:** Estructura química de Penicilinas y Cefalosporinas 47
- **Figura N° 5:** Estructura química de las Enrofloxacina 49
- **Figura N° 6:** Estructura química de Estreptomicina. 51
- **Figura N° 7:** Estructura química de las Tetraciclinas 53
- **Figura N° 8:** Clasificación de Medicamentos Veterinarios por grupo farmacológico según Principio Activo 74
- **Figura N° 9:** Fármacos Antiinfeciosos 74
- **Figura N° 10** : Fármacos Quimioterapéuticos 75
- **Figura N° 11:** Fármacos Antibióticos 75
- **Figura N° 12:** Fármacos Antiparasitarios 76
- **Figura N° 13:** Fármacos con acción sobre el Sistema Nervioso 76
- **Figura N° 14:** Fármacos Antiinflamatorios 77
- **Figura N° 15:** Fármacos Corticoides 77
- **Figura N° 16** : Agentes Hormonales 78

LISTA DE CUADROS

- **Cuadro N° 1:** Medicamentos veterinarios con Límite Máximo de Residuos 26
- **Cuadro N° 2:** Extrapolación de LMR a especies menores 32
- **Cuadro N° 3:** Clasificación de Medicamentos Veterinarios según Principio Activo, registrados en el SENASA- PERÜ 71
- **Cuadro N° 4:** Fármacos Veterinarios sin LMR establecido 78
- **Cuadro N° 5:** Medicamentos de uso veterinario programados para el monitoreo en el periodo 2012-2013 80

ABREVIATURAS

1. AINES (Antiinflamatorios no esteroidales)
2. APVMA (Autoridad Australiana en Pesticidas y Medicamentos Veterinarios)
3. BPL (Buenas Prácticas de Laboratorio)
4. BPMV (Buenas Prácticas en el Uso de Medicamentos Veterinarios)
5. CCRVDF (Comité del Codex sobre Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos)
6. CIM (Concentraciones Mínimas Inhibitorias)
7. CVMP (Comité de Medicamentos Veterinarios)
8. DDA (Dosis Diaria Admisible)
9. DIGESA (Dirección General de Salud Ambiental)
10. EFSA (Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria)
11. ELISA (Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas)
12. EMEA (Agencia Europea de Medicamentos)
13. ETA (Enfermedades Transmitidas por Alimentos)
14. FAO (Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)
15. FDA (Agencia de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos)
16. GC (Cromatografía de Gases)
17. GC-MS (Cromatografía de Gas acoplada a espectrómetro de masa)
18. GLC (Cromatografía Gas-Líquido)
19. GSC (Cromatografía Gas-Sólido)
20. HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Performance)
21. IDA (Ingesta Diaria Aceptable)
22. IPCS (Programa Internacional de Seguridad Químicas)
23. ITP (Instituto Tecnológico Pesquero)
24. JECFA (Comité Mixto FAO-OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios)
25. JMPR (Reunión Conjunta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas)
26. LC-MS (Cromatografía Liquida acoplada a espectrómetro de Masa)

27. LMR (Límites Máximos Permisibles)
28. LOQ (Límite de cuantificación)
29. NO EL (A) (Nivel de efecto no observado (adverso))
30. NOEL (Nivel de Efecto No Observable)
31. OIT (Organización Internacional del Trabajo)
32. OMS (Organización Mundial de la Salud)
33. PNUMA (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente)
34. SANIPES (Servicio Nacional de Sanidad Pesquera)
35. SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria)
36. SIMUVIMA (Sistema Mundial de Vigilancia del Medio Ambiente/Programa de Vigilancia y Evaluación de la Contaminación de los Alimentos)
37. TLC (Cromatografía en capa fina)

I. INTRODUCCIÓN

Los fármacos veterinarios se utilizan en la producción animal para tratar o prevenir enfermedades, optimizar el crecimiento y la eficiencia alimentaria mejorando la productividad animal y la producción de alimentos de alto valor nutritivo como carne, leche y huevos a precios y calidad adecuados para cubrir la demanda del consumo humano. Sin embargo, el uso inapropiado ya sea de forma inadvertida o intencionalmente (uso ilegal), sin respetar la dosificación y los usos autorizados en el registro sanitario, puede causar la aparición de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos destinados al consumo humano en niveles superiores a los Límites Máximos Permisible s (LMR) establecidos por las autoridades regulatorias nacionales e internacionales en inocuidad alimentaria con la finalidad de proteger la salud de los consumidores.

La presencia de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos originan diferentes efectos adversos sobre la salud de los consumidores, que van desde efectos leves hasta efectos tóxicos graves sobre los órganos y tejidos del cuerpo humano, por ejemplo el Cloranfenicol causa aplasia de la medula ósea (Gaudin, 2003; Fodey, 2007) y los antibióticos como los Nitrofuranos tiene efectos cancerígenos.

Los residuos de antibacterianos en los alimentos pueden originar resistencia antibiótica que causa la perdida de efectividad y fracaso de la terapia antibacteriana, también pueden afectar los procesos de fermentación de la industria alimentaria tales como la elaboración de yogurt y queso. Por otro lado la presencia de medicamentos veterinarios en los alimentos, también afectan el comercio internacional de alimentos, debido a la detención y rechazo de los envíos que superan los LMR establecidos por las autoridades reguladoras del país de destino; con la consiguiente disminución de ingresos económicos y puestos de trabajo que se genera por la exportación de alimentos agropecuarios.

Las autoridades regulatorias de inocuidad alimentaria han establecido los Límites Máximos Permisibles (LMR), es decir las concentraciones máximas de un fármaco y/o sus metabolitos que se puede permitir e n un alimento para considerarlo inocuo para el consumo humano. Sin embargo, algunas moléculas debido a su alta toxicidad, no tiene un LMR establecido, es decir son prohibidos a cualquier nivel hallado en los alimentos, considerándose su uso ilegal; entre estos compuestos figuran el Cloranfenicol y los metabolitos de los antibióticos de Nitrofuranos (Furazolidona, N- Nitrofurantoina, Nitrofuraxona y Furaltadona) (CCE, 2008).

El valor del LRM es un parámetro que se deriva a pa rtir del análisis de riesgo de estudios toxicológicos y farmacocinéticos en diversas especies teniendo en cuenta los patrones de consumo de alimentos de una determinada población, de acuerdo a los protocolos internacionalmente reconocidos emitidos por el Comité Conjunto FAO/ OMS de Expertos en Aditivos de los Alimento (JECFA) o por las autoridades regulatorias de medicamentos veterinario de cada país o región. A partir de los estudios toxicológicos se determina la dosis del fármaco que no origina ningún efecto observable sobre la salud del animal en estudio (Nivel de Efecto No Observable-NOEL), luego se calcula el LMR dividiendo el valor de NOEL por un factor de seguridad de 100-1000 veces y multiplicándolo por la ingesta diaria del tejido comestible (CAC/LMR, 2012).

Los LMR de residuos de medicamentos veterinarios para una misma sustancia y tejido pueden tener diferentes valores dependiendo del país o región económica que los emite; por ejemplo la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos y la Agencia de Medicamentos de Europa (EMEA), se encargan de realizar los análisis de riesgo y establecen los LMR para protección de la Salud de sus consumidores y exigen el cumplimiento de los LMR para exportadores de alimentos que ingresan a su país; sin embargo, estos valores de LMR deben de tener un fundamento científico según lo establecido por el Acuerdo de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la Organización Mundial de la Salud del Comercio, con la finalidad de no constituir un obstáculo encubierto al comercio. A nivel internacional el Codex Alimentarius es la entidad que emite los LMR, con la finalidad de estandarizar, la calidad e inocuidad en el comercio internacional de alimentos.

En el Perú la ley de inocuidad alimentos establece que ante la ausencia de LMR nacionales establecidos, asume los LMR del Codex; así mismo esta ley ha establecido tres autoridades nacionales competentes en inocuidad alimentaria: La Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) del Ministerio de Salud en alimentos procesados industrialmente, el Instituto Tecnológico Pesquero (ITP) del Ministerio de Producción en alimentos de origen marino y el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) del Ministerio de Agricultura en alimentos de producción y procesamiento primario (D.S Nº 034-2008-AG).

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. PRINCIPIOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE RIESGO DE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS

Los medicamentos de uso veterinario al igual que los empleados en seres humanos deben ser eficaces y seguros. Sin embargo, las nociones de eficacia y seguridad muestran diferencias importantes entre estos dos ámbitos de la terapéutica farmacológica. Así, la eficacia en medicina veterinaria abarca no sólo la profilaxis y el tratamiento de las enfermedades de los animales domésticos y salvajes, sino también a la estimulación en la producción animal (aumento del índice de fertilidad y de la tasa de reproducción, promoción del crecimiento, etc.).

Los medicamentos veterinarios deben ser seguros en la especie animal para la que hayan sido autorizados, para el manipulador que debe administrarlos, para el medio ambiente sobre el que en ocasiones se aplican o al que acceden desde los animales tratados, para el consumidor de los alimentos de origen animal y para los microorganismos transformadores de algunos alimentos (productos lácteos, fundamentalmente) (Lozano M. y. Arias M. 2008)

Si bien la utilización correcta de los medicamentos en los animales destinados al consumo humano resulta beneficiosa tanto en términos económicos como sanitarios al mejorar la rentabilidad de las explotaciones ganaderas y el bienestar animal, con la consiguiente repercusión en el precio y salubridad de los productos alimenticios, los residuos de esos medicamentos pueden llegar al consumidor a través de la cadena alimentaria produciéndole efectos nocivos como reacciones alérgicas y otras formas de toxicidad aguda, así como efectos más sutiles, pero con notables repercusiones en la salud pública, como la perturbación de la flora bacteriana intestinal (Carman *et al*., 1993).

El conocimiento creciente de estos problemas ha llevado a las autoridades de los estados americanos y de la Unión Europea a elaborar procedimientos que evalúen el riesgo para la salud humana de los residuos de los medicamentos administrados a los animales productores de alimentos, como consecuencia, a establecer normas que regulen la utilización de los mismos y a controlar su cumplimiento mediante los correspondientes programas de vigilancia (FAO-OMS, 2009).

- **Identificación del peligro**

La identificación específica del peligro o peligros que constituyen motivo de preocupación es un paso fundamental en la evaluación de riesgos y pone en marcha un proceso de estimación de riesgos específicamente debidos a ese peligro. La identificación de peligros puede haberse realizado ya hasta cierto punto durante la elaboración del perfil de riesgo. Así ocurre normalmente cuando se trata de riesgos debidos a peligros químicos. En cuanto a los peligros microbianos, es posible que el perfil de riesgo no haya identificado los factores específicos de riesgo asociados con diferentes cepas de patógenos, y la posterior evaluación de riegos podría centrarse en subtipos concretos. Los gestores de riesgos son los principales árbitros de dichas decisiones (FAO-OMS, 2009).

- **Caracterización del peligro**

Durante la caracterización de los peligros, los evaluadores de riesgos describen la naturaleza y alcance de los efectos negativos en la salud que, por lo que se ha podido comprobar, están asociados con el peligro en cuestión. Si es posible, se establece una relación dosis-respuesta entre los diferentes niveles de exposición al peligro en los alimentos en el punto de consumo y la probabilidad de diferentes efectos negativos en la salud. Entre los tipos de datos que se pueden utilizar para establecer las relaciones dosis-respuesta se incluyen los estudios de toxicidad

animal, los estudios de exposición humana clínica y los datos epidemiológicos procedentes de investigaciones sobre la enfermedad (FAO-OMS, 2009).

- **Evaluación de la exposición**

La evaluación de la exposición clasifica la cantidad del peligro consumido por varios miembros de la población expuesta. El análisis utiliza los niveles de peligro en las materias primas, en los ingredientes de los alimentos incorporados al alimento primario y en el entorno alimentario general para supervisar los cambios ocurridos en los niveles a lo largo de toda la cadena de producción de alimentos. Estos datos se combinan con las pautas de consumo de alimentos de la población destinataria para evaluar la exposición al peligro durante un determinado período de tiempo en los alimentos realmente consumidos (FAO-OMS, 2009).

La clasificación de la exposición puede variar según se consideren los efectos agudos o crónicos sobre la salud. Los riegos derivados de los peligros químicos suelen evaluarse teniendo en cuenta la exposición crónica a largo plazo o a lo largo de toda la vida al peligro en cuestión, procedente de diversas fuentes. Las exposiciones agudas suelen considerarse frecuentemente en el caso de determinados contaminantes y residuos de plaguicidas y de medicamentos veterinarios. Los riesgos de los peligros microbianos suelen evaluarse teniendo en cuenta la exposición individual a un alimento contaminado (FAO-OMS, 2009).

- **Determinación de la exposición**

Durante la caracterización del riesgo, se integran los resultados procedentes de los tres pasos anteriores para generar una estimación del riesgo. Las estimaciones pueden adoptar diversas formas, y si es posible debe describirse también la incertidumbre y la variabilidad. En el caso de la exposición crónica a los peligros químicos no suele incluir estimaciones sobre la probabilidad y gravedad de los

efectos negativos en la salud asociados con diferentes niveles de exposición. Generalmente se adopta un planteamiento de “riesgo teórico cero” y, cuando es posible, el objetivo es limitar la exposición a niveles que, según las estimaciones, probablemente no tendrán ningún efecto negativo (FA O-OMS, 2009).

Las organizaciones internacionales encargadas de la Evaluación de riesgos de residuos de medicamentos veterinarios y Plaguicidas en alimentos son: El Comité Mixto de expertos FAO/OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud) en Aditivos Alimentarios (JECFA) y la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas (JMPR) (FAO-OMS, 2009).

1.1 Metodología de análisis de riesgo de residuos de medicamentos veterinarios en alimentos.

Actualmente distintos países están utilizando diferentes métodos para la evaluación de análisis de riesgo, siendo posible su uso para la evaluación de los diferentes tipos de problemas de inocuidad alimentaria Los métodos varían en función a la clase de peligro (químico, biológico o físico), el escenario de inocuidad de los alimentos (por ejemplo, en relación con peligros conocidos, peligros emergentes, nuevas tecnologías como la biotecnología, trayectorias de peligros de gran complejidad, como la resistencia antimicrobiana), el tiempo y los recursos disponibles (FAO- OMS, 2007).

Las diferencias en la metodología del análisis de riesgos se hacen notorias al comparar los peligros químicos y microbiológicos, y se reflejan en el hecho de que, en muchos peligros químicos, es posible decidir qué parte del peligro químico puede entrar en el suministro de alimentos, por ejemplo, en el caso de los aditivos alimentarios, residuos de medicamentos veterinarios y plaguicidas utilizados en los cultivos. El uso de estas sustancias químicas puede estar regulado o limitado, de

manera que los residuos en el punto de consumo no generen riesgos para la salud humana (FAO-OMS, 2009).

Actualmente se han producido avances importantes en el desarrollo de nuevos métodos de análisis químico y toxicológico, y en la determinación de la exposición alimentaria y el riesgo derivado de la presencia de sustancias químicas en los alimentos. Por esta razón, la FAO (Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) se encargan de actualizar, armonizar, consolidar y uniformizar los principios y los métodos aplicados por el JECFA (Comité Mixto FAO-OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios)y la JMPR (Reunión Conjunta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas) para la determinación del riesgo derivado de la presencia de aditivos, contaminantes, sustancias tóxicas naturalmente presentes, residuos de plaguicidas y de medicamentos de uso veterinario en los alimentos (FAO-OMS, 2009). El análisis de riesgo, es un planteamiento sistemático y disciplinado para tomar decisiones sobre la inocuidad de los alimentos, se ha desarrollado fundamentalmente en los dos últimos decenios e incluye tres grandes componentes principales definidos por el Codex (FAO- OMS, 2007):

• **Evaluación de riesgos** : Proceso científico que consiste en los tres pasos siguientes: i) identificación de peligros; ii) caracterización de peligros; iii) evaluación de exposición, y iv) caracterización de riesgos (FAO- OMS, 2007). Las dos primeras corresponden al proceso de identificación de los residuos potencialmente peligrosos presentes en los alimentos y a la evaluación cualitativa y cuantitativa de sus efectos. Esta evaluación se basa en la determinación de un nivel sin efecto para cada sustancia activa (No-Observed Effect Level"; NOEL) y en el establecimiento de factores de seguridad para el cálculo de la Ingesta Diaria Aceptable (IDA), que es la cantidad de residuos que puede ser consumida diariamente por el hombre durante toda su vida sin riesgo apreciable para la salud. Paralelamente, se lleva a cabo la evaluación de la exposición mediante la que se estima cuantitativamente la ingesta de los residuos en función de una dieta estándar que incluye la totalidad de los

alimentos en los que pueda aparecer el residuo de interés, y se designa un residuo marcador para la monitorización de los residuos en los planes de control. La caracterización del riesgo consiste en la estimación del riesgo para el consumidor teniendo en cuenta su probabilidad de materializarse, establecida durante el proceso de evaluación de la exposición, y las consecuencias del mismo determinadas en la fase de caracterización del peligro. Como resultado de esta comparación se decide la conveniencia de establecer unos Límites Máximos de Residuos (LMRs), que indican la concentración máxima de residuos que puede aceptarse en un alimento como resultado del uso de un medicamento veterinario en animales destinados al consumo humano (FAO- OMS, 2007).

- **Gestión de riesgos** : Proceso, diferente de la evaluación de riesgos, se encarga de analizar la alternativa de políticas en consulta con todas las partes interesadas, considerando la evaluación de riesgos y otros datos relevantes para la protección de la salud de los consumidores y para la promoción de prácticas de comercio legítimo y, de ser necesario, seleccionando las opciones de prevención y control que correspondan (FAO- OMS, 2007). De acuerdo a las medidas tomadas es necesario citar y poner énfasis en la regulación de los fármacos presentes en las diferentes listas (anexos) de acuerdo al grado de peligrosidad, la fijación de LMR (Límite Máximo Permisible) para cada sustancia farmacológicamente activa formulada como medicamento, la determinación del tiempo de espera que debe transcurrir entre la última administración del medicamento y el sacrificio del animal o la obtención de sus productos de forma que no contengan residuos en cantidades superiores a los LMR fijados, el desarrollo y validación de métodos analíticos de los residuos y, finalmente, la implementación de planes de investigación y control de los residuos tanto en los animales vivos como en sus productos (FAO- OMS, 2007).

- **Comunicación de riesgos** : Es el intercambio interactivo de información y opiniones durante todo el proceso de análisis riesgos con respecto a factores relacionados con el riesgos y su percepción entre evaluadores, administradores de

riesgos, consumidores, industria, comunidad académica y otras partes interesadas (FAO- OMS, 2007). La información, la explicación de los hallazgos de la evaluación de riesgos y la decisiones de administración de riesgos pueden aparecer recogidas en informes de expertos, informes sobre el resultado de los planes de control de residuos, alertas alimentarias, normativas legales, etc. y se vehicula a través de los medios de comunicación de masas, páginas Web institucionales y redes especializadas en seguridad alimentaria tanto a nivel estatal como a nivel internacional según el organismo encargado (Red de Alerta Alimentaria Europea) (FAO- OMS, 2007).

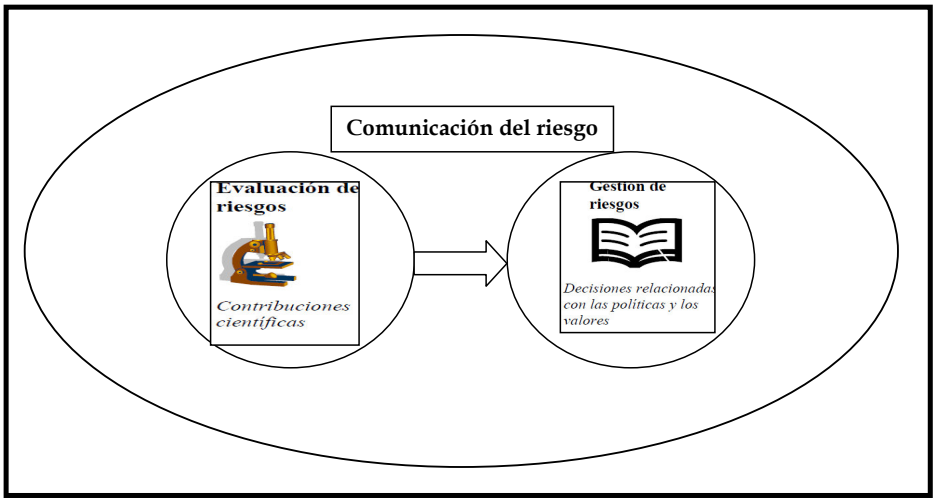
El análisis de riesgo, es un instrumento poderoso p ara la realización de análisis de base científica y para la búsqueda de soluciones sólidas y coherentes a los problemas de inocuidad de los alimentos. Es un proceso científico que consta de cuatro pasos. El uso del análisis de riesgos puede promover mejoras constantes en la salud pública y servir de base par a ampliar el comercio internacional de alimentos (FAO- OMS, 2007).

El análisis de riesgo se utiliza para elaborar una estimación de los riesgos para la salud y la seguridad humana, identificar y aplicar medidas adecuadas para controlar los riesgos y comunicarse con las partes interesadas para notificarles los riesgos y las medidas aplicadas. Puede utilizarse para respaldar y mejorar la elaboración de normas, así como para abordar cuestiones de inocuidad de los alimentos resultantes de los nuevos peligros o de desajustes en los sistemas de control de los alimentos, así mismo, representa un proceso estructurado de toma de decisiones con tres componentes distintos pero estrechamente vinculados (véase la Figura 1). Los tres componentes representan partes esenciales y complementarias que están fuertemente integrados a la inocuidad alimentaria (FAO- OMS, 2007).

El Comité del Codex sobre Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos (CCRVDF) es el encargado de realizar los análisis de riesgo asociados a

la presencia de estos residuos, así mismo es el encargado de poner en marcha el proceso que lleva ante la identificación de peligros como consecuencia de las peticiones formuladas directamente a la FAO/OMS por los países miembros (FAO-OMS, 1995).

Figura N° 1: Componentes del análisis de riesgos



El JECFA evalúa desde el punto de vista toxicológico los medicamentos de uso veterinario y normalmente calcula la IDA de la misma manera que para los aditivos alimentarios. Generalmente se utiliza el NOEL del modelo animal más sensible. No obstante, es posible emplear la actividad antimicrobiana como variable de evaluación para establecer la IDA en los casos en que los residuos de un fármaco antimicrobiano de uso veterinario ingerido con los alimentos pueden trastornar la flora intestinal y afectar a la salud humana. Esto constituye el paso de caracterización de los peligros (FAO-OMS, 1995).

La estimación de la ingesta potencial de residuos de medicamentos veterinarios es realizada por el JECFA empleando la hipótesis por defecto sobre el consumo de productos animales comestibles, tales como la leche o la carne, y

propone LMR coherentes con las Buenas Prácticas en el Uso de Medicamentos Veterinarios (BPMV). Estas estimaciones de las ingestas potenciales se comparan con las IDA. Este paso corresponde a la caracterización de los riesgos. Los LMR propuestos por el JECFA son distribuidos a los gobiernos por el CCRVDF, cuya función principal es recomendar oficialmente LMR. Aunque no examina con detalle los aspectos científicos, el CCRVDF puede examinar las opciones de gestión de riesgos a la luz de las observaciones de los gobiernos (FAO-OMS, 1995).

El CCRVDF evalúa un marco conceptual que, en el con texto de la inocuidad química de los alimentos, provee un mecanismo de examen estructurado de la información relevante para establecer las posibles consecuencias para la salud de la exposición a sustancias químicas presentes en los alimentos (FAO-OMS, 2009).

El JECFA y la JMPR revisan los métodos analíticos propuestos y deciden si son apropiados para uso internacional. Los métodos analíticos son necesarios, por ejemplo, para establecer en qué forma están presentes los contaminantes, determinar las concentraciones de una sustancia química y de sus metabolitos mediante estudios farmacocinéticos, toxicocinéticos y de eliminación de residuos, así como también calcular las concentraciones de contaminantes y de residuos de medicamentos de uso veterinario y plaguicidas presentes en los alimentos (FAO-OMS, 2009). En todos los casos, el JECFA debe asegurarse de que el medicamento de uso veterinario que va a evaluar está bien caracterizado, que se hayan detallado sus propiedades físicas y químicas, y la identidad y concentraciones de las principales impurezas. Además, debe contar con una descripción del proceso de fabricación y datos que demuestren la homogeneidad y calidad de los productos finales (FAO-OMS, 2009).

Se debe determinar la forma y distribución de los residuos derivados del método de aplicación autorizado en cada especie, y estudiar la eliminación de los residuos en los tejidos comestibles o alimentos de origen animal. Es preciso identificar un marcador, que habitualmente es la forma del fármaco (compuesto

precursor o metabolito) que se halla en concentraciones más elevadas durante un periodo más prolongado. Se establece la relación entre este marcador y las concentraciones residuales totales del fármaco (FAO -OMS, 2009).

Los datos requeridos para caracterizar un contaminante incluyen la concentración en los alimentos y en la dieta total de la mayor cantidad posible de países, sin embargo los datos obtenidos deben de organizarse de acuerdo con el Sistema Mundial de Vigilancia del Medio Ambiente/Programa de Vigilancia y Evaluación de la Contaminación de los Alimentos (SIMUVIMA/Alimentos), para facilitar las comparaciones y el control de calidad en forma global. Es necesario incluir detalles adicionales sobre los planes de muestreo y los métodos analíticos utilizados para generar los datos (FAO-OMS, 2009).

1.1.1 Estudios Toxicológicos. Nivel de Efecto No Observable (NOEL). Ingesta Diaria Admisible (IDA).

La primera etapa importante en el proceso de evaluación del riesgo es la evaluación de la seguridad de la sustancia, mediante el establecimiento de la Ingesta Diaria Admisible (IDA). Según el CODEX Alimentarius el IDA es la cantidad de un medicamento veterinario, expresada sobre la base del peso del cuerpo, que puede ser ingerida diariamente durante la vida sin presentar un riesgo apreciable para la salud (peso humano promedio: 60 kg). La Comunidad Europea define a la IDA como la estimación de los residuos, expresada en términos de g o mg por kg de peso corporal, que puede ingerirse diariamente durante la vida sin riesgo apreciable para la salud individuos expuestos (CE, 2003).

En el caso de los aditivos alimentarios y los residuos de plaguicidas y medicamentos de uso veterinario en los alimentos, el valor guía para los límites de exposición basado en criterios de salud se llama Ingestión Diaria Admisible (IDA). El JECFA y la JMPR determinan la IDA sobre la base de los datos conocidos en el

momento de la evaluación. Habitualmente, el JECFA establece la IDA en base al NOAEL más bajo relevante en las especies más sensibles (FAO-OMS, 2009).

La base para el cálculo de la IDA es el efecto de nivel no observado (adverso) (NO EL (A)) con respecto al parámetro más sensible en la especie de ensayo adecuado más sensibles o en algunos casos, e n los seres humanos. Un factor de seguridad (SF) se aplica entonces para proporcionar un margen de seguridad, teniendo en cuenta la incertidumbre inherente a la extrapolación de los datos de toxicidad en animales a los seres humanos y para tener en cuenta variaciones dentro de la especie humana (IPSC, 1987).

Cuando se fija la IDA para un medicamento de uso veterinario o un residuo de plaguicida, se toman en cuenta la toxicidad del compuesto precursor y de sus principales metabolitos, y la IDA se basa en el criterio de valoración toxicológica del compuesto más peligroso (FAO-OMS, 2009). En la selección de un factor de seguridad, se suele suponer que los humanos son diez veces más sensibles que el animal de ensayo, y que hay un rango de diez veces de la sensibilidad dentro de la especie humana. Por lo tanto, cuando los datos de buena calidad están disponibles, un factor de seguridad de l00 suele ser aplicado, aunque esto puede ser incrementado o reducido dependiendo de la naturaleza y calidad de los datos disponible y de los efectos observados en animales o seres humanos (IPSC, 1987).

Cuando los datos disponibles no son suficientes para demostrar que la exposición a los residuos durante varios años no representa un riesgo para la salud, pero no hay datos suficientes para garantizar la seguridad a través de toda una vida, una IDA temporal puede ser aceptada utilizando un factor de seguridad más alto. El concepto de IDA no es aplicable a las sustancias para las que no es posible determinar un NO (A) EL porque demuestran umbral y no los efectos. En tales casos, un enfoque alternativo para la evaluación de la seguridad se aplica sobre una base de caso por caso, teniendo en cuenta todos los datos disponibles (CE, 2003).

Una vez que la IDA se ha acordado, entonces es necesario determinar los LMR para los alimentos individuales en cuestión. Su cálculo se basa en el valor de la concentración de dicha sustancia carente de efecto en las diversas pruebas realizadas (farmacológicas, toxicológicas y microbiológicas). Cuando se emplean datos farmacológicos o toxicológicos, la base del cálculo es la máxima dosis/concentración a la que no se observa efecto alguno (No Observed Effect Level - NOEL/C) en la especie y prueba más sensible s; si se utilizan observaciones realizadas en humanos, se escoge la máxima dosis cuyos efectos, caso de producirse, no resulten nocivos para la salud humana (dosis/concentración) a la que no se observa efecto alguno (No Observed Adverse Effect Level - NOAEL) (CE, 2003).

La IDA se calcula dividendo el NOEL/NOAEL por un factor de seguridad que responde a la necesidad tanto de extrapolar datos obtenidos en estudios in vitro o en modelos animales al hombre como de tener en cuenta la existencia de grupos de población humana particularmente sensibles a los efectos de la sustancia en cuestión. Habitualmente, se asume que las personas son 10 veces más sensibles que los animales de laboratorio o los test in vitro, y que las diferencias en sensibilidad entre seres humanos son también del mismo orden (10 veces). Por ello, cabe aplicar un factor de seguridad de 100 si los datos procedentes de los estudios realizados no indican la existencia de efectos teratogénicos o carcinogénicos, en cuyo caso el factor de seguridad puede alcanzar el valor de 1000. El valor obtenido de la división de la NOEL y el Factor se seguridad es multiplicado por 60 Kg, que es el peso promedio de una persona adulta, para así obtener la cantidad total que puede ser ingerida diariamente por un ser humano (CE, 2003). En consecuencia, la IDA se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$\text{IDA (mg/kg)} = \frac{\text{NOEL (mg/kg)}}{\text{Factor de seguridad}} \times \text{Peso del individuo (60Kg)}$$

1.1.2 Estudios toxicológicos generales: dosis repet ida, reproducción, mutagenicidad.

Los estudios de toxicidad sistémica general, evalúan la posible genotoxicidad de una sustancia mediante un conjunto de pruebas in vitro y, si es necesario, in vivo. El estudio completo de la posible genotoxicidad de una sustancia exige información sobre su capacidad de inducir mutaciones genéticas puntuales, aberraciones cromosómicas estructurales y en el número como la aneuploidía (FAO-OMS, 2009).

Los estudios toxicológicos tienen como objetivo demostrar que, en las condiciones de uso propuestas, la sustancia estudiada no supone un riesgo inaceptable para la salud del consumidor de productos procedentes de animales tratados con ella. Así mismo, su estudio es necesario para demostrar que dicha sustancia no interfiere con los procesos de transformación de los alimentos o afecta a la calidad de los mismos (CE, 2003). Abarcan los siguientes tipos:

a. Toxicidad por dosis única (toxicidad aguda): Se emplean dos especies (la especie de destino y otra) y dos vías de administración (la vía propuesta y una vía alternativa). Estos estudios son útiles para establecer la toxicidad para el manipulador y para seleccionar la dosis a emplear en los estudios de toxicidad por dosis repetidas, donde se evalúa desencadenamiento de las variaciones funcionales y morfológicas, generando su aparición en función del tiempo (CE, 2003).

b. Toxicidad por dosis repetidas: Se emplean al menos dos especies (usualmente un roedor y el perro), administrándose 3 dosis diferentes por vía oral durante un mínimo de 90 días. La dosis superior debe ser suficiente para producir efectos tóxicos, mientras que la dosis inferior debe resultar inocua (CE, 2003).

c. Tolerabilidad en la especie de destino: Estos estudios resultan esenciales para evaluar la seguridad en la especie de destino pero son poco relevantes para establecer la IDA (seguridad humana) (CE, 2003).

d. Toxicidad reproductiva: Incluye también la toxicidad para el desarrollo, es un estudio donde se evalúa el potencial de influir negativamente en el rendimiento reproductivo de los adultos expuestos así como el normal desarrollo de su progenie (CE, 2003). Evalúados efectos:

Efecto sobre la reproducción: Se evalúa la capacidad reproductora de animales machos y hembras (función gonadal, ciclo estral, fertilidad, comportamiento materno, crecimiento de la primera generación hasta la madurez y de la segunda hasta el destete) en 2 generaciones de roedores a los que se administran 3 dosis distintas del fármaco por vía oral antes del aparea miento.

Efecto sobre el desarrollo: Se evalúa la presencia de malformaciones en los fetos, su peso y edad al nacer, etc. Se administra el fármaco (3 dosis, per oral.) a hembras preñadas pertenecientes al menos a dos especies distintas (rata y conejo o ratón) durante las etapas críticas de la organogénesis (días 6 al 15 en el ratón y la rata, y días 6 al 18 en el conejo).

e. Mutagenicidad: Representa la capacidad de la sustancia para inducir cambios transmisibles en el material genético de las células. Los cambios pueden ser transmisibles entre generaciones (mutación en las células germinales) o entre células de un mismo individuo (mutación somática). Inicialmente, se llevan a cabo test in vitro (cultivos bacterianos y de células de mamíferos).Si se obtuviesen resultados positivos deberían iniciarse pruebas in vivo para demostrar, en su caso, la ausencia de mutagenicidad.

Los ensayos realizados se llevan a cabo in vitro, los cuales son validados y cubren parámetros de estudio genéticos diferentes (CE, 200 3).

La batería de pruebas comúnmente utilizadas incluye un ensayo de mutagenicidad en bacterias y en células de mamíferos que permiten detectar mutaciones puntuales o daño cromosómico (efecto clastogénico/ aneugénico) (FAO-OMS, 2009). La Mutagenicidad depende directamente del potencial del ingrediente activo y/o de sus metabolitos pertinentes para provocar cambios en la genética, los resultados deben ser evaluados sobre la base de la documentación ya recopilada tras la realización de ensayos. (CE, 2003).

El inicio y duración de los efectos tóxicos, la dependencia de la dosis y la reversibilidad o irreversibilidad y todas las especies o diferencias relacionadas con el sexo debe ser revisado y discutido, en particular evaluando: Signos tóxicos, causas de muerte, química clínica, hematológica, patológicos y todas las conclusiones pertinentes (CE, 2003).

La extrapolación de los datos de las especies animales a los seres humanos se debe considerar (CE, 2003):

- Especies animales utilizadas
- Número (s) de los animales utilizados
- Ruta o vía (s) de administración utilizada
- Dosis (s) que se utiliza
- Duración del tratamiento y/o de todo el estudio
- La relación dosis-respuesta
- La naturaleza de los efectos adversos.

1.1.3 Estudios microbiológicos

Mediante los estudios microbiológicos de los residuos, se evalúa los posibles efectos de los fármacos en estudio y su comportamiento en el intestino humano y el efecto que causa sobre la flora del consumidor, así como también los efectos potenciales sobre los microorganismos utilizados en la industria de procesamiento

de los productos alimenticios (CE, 2003). Sin embargo estos estudios pretenden documentar el riesgo específico (microbiológico) de los residuos de los fármacos antimicrobianos. La evaluación del riesgo microbiológico se efectúa sobre dos sistemas biológicos:

a. Efectos sobre la flora intestinal humana: El cual trata de elucidar si los residuos de compuestos antimicrobianos ingeridos con los alimentos reducen la capacidad de la flora intestinal para actuar como barrera frente a la colonización por microorganismos patógenos o ejercen una presión selectiva sobre la misma favoreciendo el crecimiento de gérmenes resistentes (resistencia natural o adquirida) (Gorbach S. 1993).

El riesgo producido será especialmente grave si esos fármacos también se emplean en medicina humana. Para algunos fármacos, la IDA se basará en datos microbiológicos obtenidos de estudios llevados a cabo en humanos, en modelos animales o in vitro, sobre cultivos de bacterias representativas de la flora intestinal humana y para determinar las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CIM) (CE, 2003).

Los efectos de los ingredientes microbiológicamente activos deben ser considerados con vistas a la determinación de un efecto microbiológico de nivel no observado en las especies relevantes de la flora intestinal humana (Gorbach, 1993). Para algunos fármacos, el IDA se puede establecer sobre la base de los efectos sobre la flora intestinal humana. Sin embargo para algunos fármacos, como los antibióticos, el cálculo de la IDA puede basarse en el resultado de los estudios microbiológicos (CE, 2003).

El Comité de Medicamentos Veterinarios (CVMP) de la Agencia Europea de Medicamentos (EMEA), propone una aproximación basada en la obtención de concentraciones mínimas inhibitorias del crecimiento (CMI) de bacterias representativas de la flora intestinal humana (anaerobios: bifidobacterias y

eubacterias gram (+) y bacteroides gram (–) para el cálculo de la IDA microbiológica a partir de datos obtenidos mediante test *in vitro,* y el empleo de la fórmula siguiente:

$$IDA = \frac{CMI_{50} \times FC2 \times \text{Contenido del colon (0.220 kg)} \times FC1}{\text{Fracción de dosis oral disponible por los microorganismos.}} \times \text{Peso del individuo (60 kg)}$$

El término CMI_{50} hace referencia al límite inferior del intervalo de confianza del percentil 10% de la distribución centrada en la media de la CMI_{50} (Concentración Mínima Inhibitoria del crecimiento del 50% de un mínimo de 100 muestras correspondientes al menos a 10 tipos de bacterias características de la flora intestinal humana) (CE, 2003).

La fórmula incluye dos factores de corrección (FC):

- **Factor de corrección 1 (FC1)** , es el factor de corrección de la capacidad de la sustancia para seleccionar poblaciones e inducir resistencias bacterianas. Varía de 1 (no hay capacidad para inducir resistencias) a 5 (hay evidencia de inducción de resistencia mediante mecanismos de transferencia), empleándose el valor de 3 si hay evidencia de inducción de resistencias mediante incremento de la frecuencia de las mutaciones sin involucrar mecanismos de transferencia entre bacterias (Myllyniemi, 2004).

- **Factor de corrección 1 (FC2),** con este valor se pretenden corregir las diferencias de los resultados obtenidos en pruebas *in vitro* e *in vivo.* Dada la dificultad de cuantificar este factor, se recomienda llevar a cabo las determinaciones de la CMI en condiciones que reflejen lo más fielmente (Mylly niemi, 2004).

Los efectos sobre la flora intestinal humana son relevantes ya que la microbiota del tracto gastrointestinal humano es extremadamente compleja, pero relativamente estable, contiene más de 400 especies bacterianas (Carman et al., 1993). Siendo la concentración de la microbiota anaeróbica en las heces es de 1011-1012 UFC g-1 y la concentración de microbiota aerobia muy inferior, representando el 0,1% de la microbiota normal. Existe una microbiota dominante anaeróbica residente, además una microbiota subdominante que es la minoría y una microbiota variable compuesta que puede estar presente en un periodo de tiempo variable (Myllyniemi, 2004).

b. Efectos sobre microorganismos empleados en la industria alimentaria:

Se pretende determinar la concentración de antibióticos que no inhiba el crecimiento de los microorganismos empleados en la producción de yogurt o queso, siendo los comúnmente empleados los cultivos de Bifidobacterium, Bacteroides y/o Lactobacillus. El resultado de estos estudios será relevante para fijar el LMR en la leche (CE, 2003). Los posibles efectos sobre los microorganismos utilizados en la transformación industrial de los productos alimenticios como es el caso de la industria láctea , pueden desencadenar efectos no deseables en la salud de los consumidores (Solís B. 2006, CE, 2003)

El consumo de medicamentos con fines terapéuticos por parte de los seres humanos suele producir algunas consecuencias adversas y efectos colaterales indeseables, los cuales pueden evitarse cuando su ingestión se realiza fundamentada en prescripciones médicas con relacióna la dosis y la duración de la terapia (Márquez D, 2008).

Cuando la ingestión de medicamentos u otros compuestos químicos ocurre bajo la forma de residuos en los alimentos, se hace difícil su cuantificación, así mismo puede causar efectos directos en la salud de los consumidores, que van desde alergias (Betalactámicos, Cefalosporinas y ot ros), resistencia microbiana, carcinogenicidad, mutagenicidad, teratogenicidad, cambios morfo-fisiológicos por

sustancias hormonales, alteraciones en el depósito de calcio en los huesos (Oxitetraciclina), depresión de la médula ósea o anemia aplásica, siendo esta irreversible (Cloranfenicol), hasta alteraciones del sistema nervioso central (Ivermectina), entre muchos otros efectos nocivos (Márquez D, 2008; Myllyniemi, 2004).

En particular, es importante señalar la preocupación en el mundo por el incremento de la resistencia bacteriana que se está presentando en humanos por el uso de antimicrobianos como Quinolonas, Oxitetraciclinas y Sulfonamidas, en la producción pecuaria (Márquez, 2008).

La resistencia de colonización significa la defensa natural por microbiota normal contra la colonización y la translocación por microbios exógenos potencialmente patógenos o contra el crecimiento excesivo de otros microorganismos oportunistas (Carman *et al*., 1993). La administración inadecuada de los agentes antimicrobianos puede causar alteraciones en estas funciones. Los trastornos en el equilibrio ecológico entre el huésped y los microorganismos que se producen depende del espectro de la agente antimicrobiano, la dosis, las propiedades farmacocinética y farmacodinámicas y de la inactivación del agente (Sullivan *et al*., 2001).

Estudios realizados obtuvieron como resultado en cuanto a la modificación de la actividad metabólica de la microbiota, la identificación de los cambios en las poblaciones de bacterias, selección de bacterias resistentes, y la perturbación del efecto barrera, lo cual podría generar alteraciones en la salud del individuo (Myllyniemi, A. 2004). Se ha reportado casos de resistencia de colonización por patógenos resistente, siendo los animales los que excretan las bacterias en un mayor número y durante periodos de tiempo más largo en comparación con los animales con una intacta colonización bacteriana (Myllyniemi, 2004).

Algunos de los datos han sido reportados en cuanto a la susceptibilidad de los antimicrobianos y la aparición de bacterias resistentes con dosis bajas de

agentes antimicrobianos. Del mismo modo, el aumento de la susceptibilidad a la infección por Salmonella con baja dosis de antimicrobianos ha sido descrito. Las tetraciclinas pueden tener relativamente un impacto a bajas dosis en la microbiota fecal anaeróbica de los seres humanos (Myllyniemi, 2004).

Existe una estrecha relación entre la tetraciclina, estreptomicina, gentamicina y residuos de cloranfenicol y la resistencia de las bacterias aisladas de muestras, lo cual sugiere que la presencia de bajos niveles de agentes antimicrobianos puede ejercer una presión positiva hacia la selección y la expresión de la resistencia en bacterias que colonizan los tejidos animales (Vázquez *et al*., 1990). Es posible, aunque no se ha demostrado, que las dosis bajas de fármacos antimicrobianos podrían alterar l a actividad enzimática intestinal y tener un efecto en ciertas hormonas y drogas (Gorbach, 1993).

1.1.4 Estudios a largo plazo, Carcinogenicidad.

Estos estudios se realizan para las sustancias de estructura química similar a las de carcinógenos bien conocidos o a los test de mutagenicidad que hayan dado positivo, e involucra la evaluación de una posible carcinogenicidad causado por los ingredientes activos y/o sus metabolitos en base a documentación que se haya obtenido (FAO- OMS. 2009).

La evaluación del riesgo carcinogénico se realiza en al menos dos especies animales que son expuestas al fármaco (3 dosis, vía oral) durante la mayor parte de su ciclo vital, y se efectúa bajo dos sistemas d e administración de dosis:

• **Dosis superior**, es aquella que deberá producir efectos tóxicos agudos mínimos que no reduzcan sustancialmente las expectativas de vida de los animales, excepto por la producción de tumores.

• **Dosis inferior**, es aquella que no produce tumores ni afecta la longevidad de los animales. Los carcinógenos genotóxicos a diferencia de los que actúan, por ejemplo, modificando los niveles séricos de hormonas que favorecerán la aparición de tumores hormono dependientes- no pueden ser utilizados en los animales destinados al consumo humano (FAO- OMS. 2009). En particular, se debe considerar la estructura de la sustancia y su potencial carcinógeno, así como la evaluación de la unión covalente a macromoléculas celulares y los resultados obtenidas de la toxicidad a corto y largo plazo realizada mediante pruebas genéticas Las observaciones deben ser específicas y puntuales tales como el aumento en la incidencia de tumores en comparación con los animales de control no tratados, así como el tipo de tumor, malignidad y la aparición de lesiones pre-neoplásicas si las hubiera. (CE, 2003).

Cuando se trata de establecer si un compuesto es o no genotóxico, es necesario realizar una evaluación general de los datos disponibles. Por lo general, se considera que resultados concluyentemente negativos en una batería de pruebas *in vitro* bastan para concluir que una sustancia no tiene poder genotóxico, a menos que haya elementos que preocupen especialmente (por ejemplo, exposición importante o continuada de los humanos, consideraciones de orden estructural) (FAO- OMS, 2009).

A la inversa, uno o más resultados positivos en las pruebas *in vitro* generalmente exigen un seguimiento mediante pruebas de genotoxicidad *in vivo*. El resultado de las pruebas de genotoxicidad se debe analizar junto con los resultados experimentales de los bioensayos de carcinogenicidad en roedores, porque los resultados de las pruebas de corto plazo por sí solos no son fiables para establecer si una sustancia química es carcinogénica en los roedores o no lo es. Los estudios de genotoxicidad positivos sí brindan información sobre el mecanismo de acción de las sustancias carcinógenas e influyen en el enfoque que de la caracterización del peligro posterior (FAO- OMS, 2009).

Los resultados positivos en los bioensayos de cáncer en roedores exigen una interpretación cuidadosa respecto al mecanismo de acción, las posibles diferencias entre especies en relación con la incidencia de base y con la respuesta, y también de la extrapolación de los datos obtenidos con altas dosis a las dosis bajas. El Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS) ha elaborado un marco conceptual para la evaluación del mecanismo de acción de la carcinogenia por sustancias químicas en especies de animales de laboratorio, que posteriormente se amplió para abordar el problema de la relevancia para los humanos de los datos sobre cáncer obtenidos en animales. Los mecanismos relevantes para los humanos son, entre otros, reactividad del ácido desoxirribonucleico y genotoxicidad (FAO-OMS, 2009)

1.2 Límite Máximo de Residuos de Medicamentos Veterinarios

La administración de medicamentos veterinarios en animales destinados a la producción de alimentos puede dejar residuos en los productos alimenticios si no se cumple con el periodo de retiro establecido. Actualmente los avances científicos y técnicos, nos permiten detectar la presencia de los mismos a niveles cada vez más bajos, siendo necesario establecer los Límites Máximos de Residuos (LMR) de sustancias farmacológicamente activas de los medicamentos veterinarios, para todos los productos alimenticios de origen animal como: la carne, pescado, leche, huevo y miel (CEE, 2008).

La Comisión del Codex Alimentarius en la 35ª Sesión llevado a cabo en Julio de 2012, actualizó los Límites Máximos de Residuos para Medicamentos Veterinarios (Ver Cuadro 1) (CAC/LMR, 2012). Sin embargo, contrastando esta relación con el de la Comunidad Europea, se le otorga el LMR a sustancias no autorizadas incluidas en el Grupo A del Anexo I de la Directiva 96/23/CE de la Comunidad Europea en base a estudios toxicológicos y carcinogénicos establecidos, entre ellos: Clenbuterol, Dexametasona, Progesterona, Testosterona, Estradiol y Zeranol.

Cuadro N° 1: Medicamentos veterinarios con Límite Máximo de Resi duos

Medicamento veterinario	Medicamento veterinario
Abamectina	Febantel/Fenbendazol/Oxfendazol
Acetato de melengestrol	Fluazuron
Acetato de trenbolona	Flubendazol
Albendazol	Flumequina
Amoxicilina	Foxim
Avilamicina	Gentamicina
Azaperona	Imidocarb
Bencilpenicilina/Bencilpenicilina procaínica	Isometamidio
Carazolol	Ivermectina
Ceptiofur	Levamisol
Ciflutrín	Lincomicina
Cihalotrín	Monensina
Cipermetrina	Moxidectina
Clenbuterol	Narasina
Clortetraciclina/Oxitetraciclina/Tetraciclina	Neomicina
Closantel	Nicarbacina
Colistin	Pirlimicina
Danofloxacina	Progesterona
Deltametrina	Raptopamina
Dexametasona	Sarafloxacina
Diciclanil	Somatotropina porcina
Diclazuril	Sulfadimidina
Dihidrostreptomicina/Estreptomicina	Testosterona
Diminazina	Tiabendazol
Doramectin	Tilmicosina
Eprinomectína	Tilosina
Eritromicina	Triclabendazol
Espectinomicina	Triclorfón (metrifonato)
Espiramicina	Zeranol
Estradiol-17beta	

Fuente: Comisión del Codex Alimentarius. 35ª Sesión **(**CAC/LMR, 2012).

1.2.1 Protocolo para el establecimiento del Límite Máximo de Residuo (LMR)

El establecimiento del Límite Máximo de Residuo (LM R) tiene como fuente de inicio la evaluación y caracterización del riesgo de un fármaco ante la posible toxicidad al consumir alimentos de origen animal con residuos de medicamentos veterinarios, la determinación de un Nivel de Efecto No Observado (NOEL) e Ingesta Diaria Aceptable (IDA) y el consecuente cálculo de los Límites Máximos de Residuos (LMR).

De acuerdo con el Reglamento 2377/90 (CEE, 2008).el Límite máximo de residuos, es la concentración máxima de residuos resultante del uso de un medicamento veterinario, basado en el tipo de fármaco y en la cantidad de residuo que se considera sin riesgo toxicológico para la salud humana, expresada como la IDA (Ingesta Diaria Admisible) o en la base de una DDA (Dosis Diaria Admisible) temporal que utilice un factor de seguridad adicional.

El procedimiento de recomendación de LMR es un proceso iterativo. El LMR no deriva directamente de la IDA. Si la IDA se basa en los puntos finales toxicológicos, todos los residuos toxicológicos de relevancia se consideran, si la IDA se basa en los puntos finales microbiológicos, todos los residuos de relevancia microbiológica se consideran. El procedimiento de recomendación de LMR también tiene en cuenta las condiciones de uso (por ejemplo el uso del medicamento veterinario de acuerdo con las Buenas Prácticas en el Uso de Medicamentos Veterinarios o BPMV) y los residuos que resultan de tal uso (por ejemplo, los estudios de residuos). (FAO- WHO, 2006).

También se consideran los resultados de los estudios de residuos radio marcados, la biodisponibilidad de los residuos ligados, la identificación de los tejidos diana y un residuo marcador, la disponibilidad de métodos de análisis prácticos, la exposición estimada resultante del LRM recomendado y la consideración de la

extensión de los LMR para los tejidos, los huevos y la leche de otras especies (FAO-WHO, 2006).

La consideración inicial para recomendar un LMR es tener en cuenta si es suficiente o se garantiza la protección de la salud humana. Si el uso del medicamento veterinario produce un consumo estimado de residuos de medicamentos veterinarios compatibles con la IDA, los LMR recomendados a continuación, se puede ajustar en consecuencia cuando se tienen en cuenta los otros factores mencionados anteriormente. No se recomienda normalmente un LMR que se produce en los niveles de residuos que llevan a una ingesta superior a la IDA sobre la base de consideraciones toxicológicas o microbiológicas (FAO-WHO, 2006).

Para proteger la salud de los consumidores el Comité de la Comunidad Europea, ha basado sus recomendaciones sobre el consumo estimado utilizando un modelo de Dieta Típica (canasta de alimentos) el cual consiste en (FAO-WHO, 2006; CE, 2003):

- Músculo: 300 g
- Leche: 1500 g
- Hígado: 100 g
- Huevo: 100g
- Riñón: 50 g
- Miel: 20g
- Grasa: 50 g

La estimación del nivel límite aceptable de residuo en tejido comestible, debe ser de tal manera, que cuando se ingieren los alimentos de origen animal, no se exceda al IDA, para ello se debe tener en cuenta (CE, 2003):

- El residuo: medicamento original, metabolitos.
- La proporción en que se encuentra, de acuerdo a los diferentes tejidos comestibles.
- La partición del ADI, teniendo en cuenta la dieta teórica típica, si se usa solamente en animales es el 100% y si hay otros usos (plaguicidas) representa el 45%. Además en necesario considerar que el peso pro medio corporal arbitrario es de 60 kg.

Por ejemplo para el caso de un fármaco "X" donde la concentración sea 0.05mg/kg, entonces el cálculo del IDA se efectuará realizando la siguiente operación: 0.05mg/kg x 60 kg = 3mg, además teniendo en cuenta la dieta típica y la partición se podría calcular el LMR para diferentes matrices (Músculo e Hígado):

	Partición	
Músculo (300g)	10%	3mg x10%= 0.3mg
Hígado (100g)	90%	3mg x 90%= 2.7mg

Donde el LMR:

Músculo 0.3mg/ 300g= 0.001mg/g ó 1ug/g
Hígado 2.7mg/100g= 0.027 mg/g ó 27ug/g

1.2.2 Comparación de los LMR del Codex y otras organizaciones internacionales de la Comunidad Europea

El Límite Máximo de Residuo para Medicamento Veterinario (LMRMV) se define como la concentración máxima de residuo resultante del uso de un medicamento veterinario (expresado en mg/kg sobre la base del peso fresco) que la Comisión del Codex Alimentarius recomienda que se permita legalmente o se reconozca como admisible dentro de un alimento o en la superficie del mismo. Sin

embargo, la Comunidad Europea (UE) lo define como la concentración máxima de residuos aceptada en un producto alimenticio obtenido a partir de un animal que ha recibido un medicamento veterinario, cuya evaluación de la inocuidad de dichos residuos se lleva a cabo por el por el Comité de Medicamentos de Uso Veterinario (CVMP).

1.2.3 Extrapolación del Límite Máximo de Residuo (LMR)

La extrapolación del LMR de la sustancia farmacológicamente activa se realiza para cada tejido comestible de cada especie de destino, teniendo en cuenta la ingesta de todas las fuentes posibles de forma que no se supere el valor de la IDA (Ingesta Diaria Admisible). Además, la ID A debe repartirse entre productos de origen animal (45%) y de origen vegetal (55%) cuando la sustancia para la que se va a establecer el LMR se emplee también como pesticida y si se usa sólo en animales, considerar el100% (CE, 2003).

Sin embargo, no existe una fórmula simple que permita calcular los LMR. La Ingesta Diaria Admisible (IDA) y el cálculo de los mismos se basará en el patrón de consumo de alimentos, la distribución tisular de los residuos (identificación de tejidos diana, en el que los residuos del residuo marcador están presentes en las concentraciones más altas y son los más persistente s), la selección de un residuo marcador (puede ser el medicamento original, un metabolito principal, la suma de un medicamento original y/o metabolitos o un producto de la reacción formado a partir de los residuos del medicamento durante el análisis) y la cuantificación de la cantidad total de residuos susceptibles de ser ingeridos (ALINORM 06/29/31. 2006)

El establecimiento de los LMR conlleva la distribución de la cantidad de residuos definida como la Ingesta Diaria Admisible (IDA) entre los diferentes tejidos y productos comestibles (músculo, hígado, riñón, grasa, piel, huevos, leche y miel) susceptibles de ser ingeridos de acuerdo con un patrón de consumo de productos de origen animal (CE, 2003).

Independientemente de la especie a la que se administra la sustancia activa, no es de sustancial acuerdo en que el LMR debe, en lo posible, ser el mismo en cada especie como el riesgo de caracterización del residuo es esencialmente similar, así como varios factores de seguridad se han utilizado en su derivación. Teniendo en cuenta la variación de eliminación de residuos en asl distintas clases de animales y por tanto en la evaluación de la exposición, la caracterización del riesgo no debería también diferir sustancialmente dentro de una clase de animal. Por lo tanto, una extrapolación de LMR de una especie a otra especie, dentro de una clase de animales se considera como el método por defecto (CE, 2003).

Se ha establecido LMR muy similares principalmente para tres especies animales, de diferente clase (rumiantes, monogástricos y aves de corral, en base a datos de residuos específicos, confirmando una similar situación de exposición del consumidor en relación con estas especies, se puede suponer que la exposición, evaluación y la caracterización del riesgo sobre la base de los mismos o similares LMR para otras especies más allá de las clases de animales que serían afectados fueran similares (CE, 2003). Según las experiencias obtenidas de extrapolación el Comité de Medicamentos de Uso Veterinario (CVMP) mediante sus directrices, ha establecido (CE, 2003):

i) Los LMR deben poder extrapolarse entre una misma especie de animales (Ver Cuadro 2).

ii) Si se dedujeran LMR idénticos en el ganado, los cerdos y las aves de corral, que representan las principales especies con diferentes capacidades metabólicas y la composición de los tejidos, los mismos LMR se puede configurar por ejemplo para los ovinos, equinos y pollos, lo que significa una extrapolación, considerando posible para todos los animales productores de alimentos, excepto peces (CE, 2003).

iii) El establecimiento de los LMR en los bovinos, cerdos y pollos, que son sin embargo ligeramente diferente entre estas especies, la extrapolación del LMR es

posible a otras especies similares como los rumiantes menores (ovino y caprino), otras especies monogástricas y aves de corral, debido a que presentan similitud en cuanto a sus capacidades metabólicas y composición en sus tejidos, a excepción de los peces. (CE, 2003).

iv) Al extrapolar los LMR para una especie menor, un método validado para esta especie no es muy necesario ya que podría ser suficiente un método desarrollado y validado para la especie principal, el cual podría ser aplicable para una especie menor (CE, 2003).

Cuadro N° 2: Extrapolación del LMR a especies menores

Especie con LMR establecido	**Extrapolaciones a:**
Rumiante mayor	Todos los rumiantes
Rumiante mayor de leche	Todos los rumiantes de leche
Mamífero mayor monogástricos	Todos los mamíferos monogástricos
Pollo y huevo	Aves de corral y huevos
Salmónidos	Todos los peces con aleta
Rumiante mayor o mamífero monogástrico	Caballos

Fuente: REG-THE-030, 2009.

1.3 Estudios Farmacocinéticos.

Con respecto a la seguridad de los consumidores, el objetivo de los estudios farmacocinéticos es evaluar la absorción, distribución, metabolismo y excreción del producto en la especie diana .Los datos deben demostrar la transcurso del tiempo de las concentraciones de fármaco original y/o su metabolito
(s) en los tejidos y fluidos corporales. El estudio se lleva a cabo normalmente en animales sanos (CE, 2003).

La farmacocinética cuantifica los efectos de un medicamento en el tiempo, para ello utiliza modelos que permiten predecir la permanencia de un principio activo en el organismo. La manera como se obtiene es haciendo uso de regresiones de la relación concentración plasmática contra el tiempo. Al realizar este procedimiento se obtienen tres pendientes, denominadas α (para la fase de distribución), β (para la fase de distribución-eliminación),γ (para la fase posterapéutica en concentraciones que varían generalmente de 0.1 a 1 µg/ml), estos ángulos se manifiestan aritméticamente con el valor de su tangente. Mediante el análisis de estas fases se puede predecir la permanencia de una molécula en el organismo, ya que con ellas se obtiene la vida media del fármaco en sus diferentes fases, pudiéndo se realizar de manera gráfica o mediante ecuación (Sumano, 2006).

Vida media= 0.693/ pendiente (α, β o γ)

Donde 0.693 es el logaritmo natural de 2, constante necesaria para obtener el valor de vida media si se le define como el tiempo necesario para reducir a la mitad cualquier concentración en el plasma (Sumano, 2006).

La absorción, distribución, biotransformación, excreción y la aparición de metabolitos en animales productores de alimentos deben ser evaluados teniendo en cuenta las características del residuo del fármaco en el tejido, rutas de administración y las diferencias existentes entre las especies en estudio. Según la naturaleza química y concentración de los residuos en tejidos comestibles (músculo o músculos más piel en proporciones normal es, la piel más grasa o sin grasa, hígado, riñón, leche, huevos, miel) se propone un valor de LMR (CE, 2003).

Los estudios farmacocinéticos proporcionan información sobre la absorción de una sustancia, su distribución y la persistencia en los tejidos, su metabolismo y excreción. Generalmente los datos farmacocinéticos (obtenido principalmente a partir de estudios de administración oral en animales de laboratorio) son tomados cuando la sustancia en estudio ha sido ingerida por los seres humanos. La vía oral

debe ser la principal vía de administración en los estudios de farmacocinética (CE, 2003).

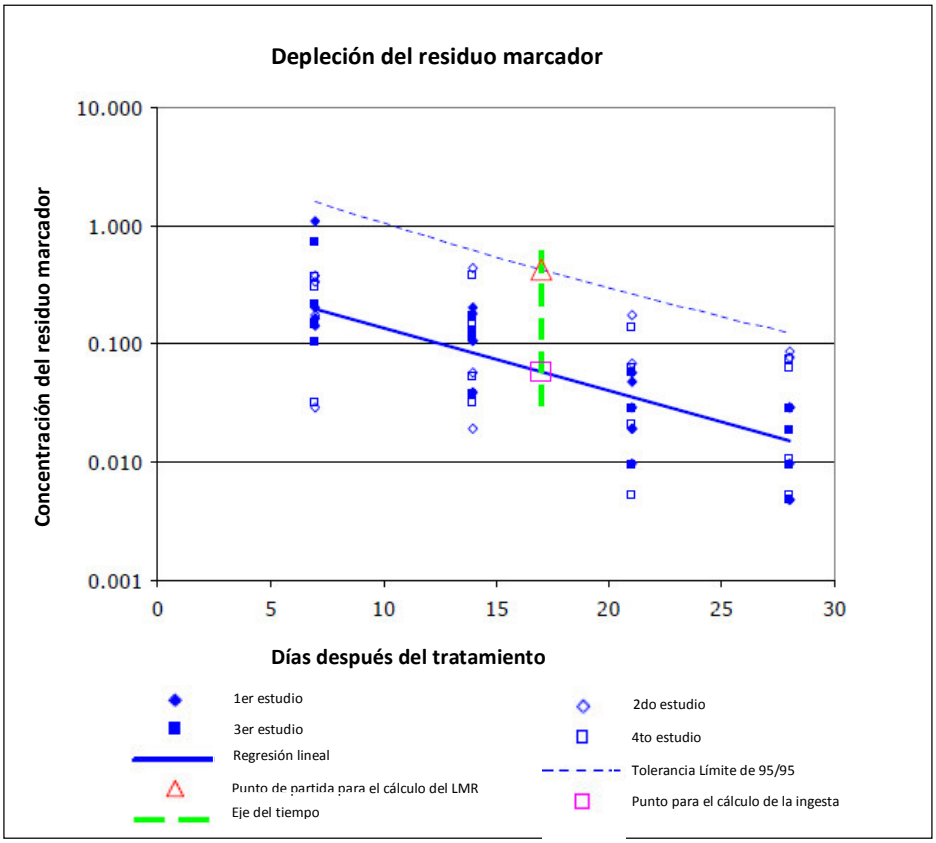
Estos estudios también pueden ayudar a explicar los resultados inusuales obtenidos en los estudios de toxicidad, tales como una aparente falta de respuesta a la dosis cuando el fármaco no se absorbe bien. Los datos farmacocinéticos generados en las especies objetivos, desempeñan un papel importante en la identificación de los metabolitos que se producen como residuos en los alimentos derivados de los animales tratados. Es necesario realizar una comparación de los perfiles metabólicos en las especies de animales de laboratorio utilizados y la especie animal de destino, y si está disponible el metabolismo en los seres humanos, es importante determinar la relevancia de la los efectos toxicológicos y NOEL observado en los estudios de seguridad experimental (CE, 2003).

1.3.1 Estudios de depleción en tejidos y determinación del periodo de retiro.

El estudio de depleción de un fármaco mide el agotamiento de los residuos de una droga en tejidos comestibles de animales después de su última administración. La metodología radiotrazador es actualmente la técnica más útil para determinar el total de residuos.

Para la determinación del tiempo de espera (en todas las especies objetivo) debe ser calculado usando los resultados de los datos estimados por la línea de regresión. El período de retiro es el tiempo en que el límite superior del intervalo de tolerancia al 95% estimado con un intervalo de confianza al 95% es menor al Límite Máximo de Residuos (LMR) (Ver Figura 2). Si este tiempo no corresponde a un día completo, el período de retiro estimado se redondea hasta el día siguiente. Por ejemplo, si el período de retiro estimado es 6,3 días, entonces éste se fija en 7 días (Sumano, 2006). Es necesario tener en cuenta que la determinación del periodo de retiro de los fármacos veterinarios depende de la formulación y vías de administración (FAO-OMS. 2006).

Figura N° 2 : Utilización de los datos de estudios de depleción para la determinación del LMR



Fuente: FAO-OMS, 2006.

La Figura 2 presenta los datos de depleción del residuo marcador en un tejido obtenido en cuatro estudios diferentes en una escala semi-log, donde se aceptan concentraciones con una distribución logarítmica normal y una tasa de depleción de primer orden produciendo una línea recta. La línea continua es la recta de regresión calculada por regresión lineal utilizando los datos de concentración transformados logarítmicamente. La línea de puntos muestra el intervalo de confianza del 95% superior sobre el 95 percentil de todos los valores previstos resultantes de los

tratamientos similares de la misma especie y raza de los animales en las mismas condiciones. El Límite Máximo de Residuos de Medicamentos Veterinarios (LMRMV) es un punto de esta línea y para determinar el punto más apropiado en esta línea, la ingesta diaria máxima teórica (IDMT) resultante se calcula y se compara con las características de rendimiento del método analítico propuesto (FAO-OMS, 2006).

El período de retiro debe ser fijado por interpolación y no por extrapolación. En muchos casos, las concentraciones del LMR son próximas al LOQ (Límite de cuantificación) del método analítico usado para cuantificar los residuos. Como consecuencia, no se dispone de datos experimentales próximos al tiempo en que el límite superior del intervalo de tolerancia intercepta al valor del LMR, por lo tanto resulta inevitable que la línea regresión y el límite superior de su intervalo de tolerancia deban ser extrapolados para estimar el período de retiro (Sumano, 2006).

Dado que se asume que la cinética de depleción tisular de los datos transformados logarítmicamente es lineal, los límites del intervalo de tolerancia son descritos por líneas hiperbólicas, por lo tanto el período de retiro no es desestimado por una leve extrapolación. Sin embargo se debe tenerse presente que si una leve extrapolación de la línea estimada del intervalo de tolerancia es aceptada como un procedimiento válido, no se acepta la extrapolación de la recta de regresión lineal más allá de los datos experimentales de concentración tisular. Esta condición se fundamenta en el hecho que para estimar el período de retiro, el LOQ de la técnica analítica debe ser menor al LMR, para que pueda disponerse de al menos un grupo de datos experimentales con valores menores a éste para poder realizar el análisis de regresión lineal (Sum ano, 2006).

Los estudios de depleción se lleva cabo con animales de ambos sexos, sanos y previamente medicados de los cuales posteriormente se toma muestras de tejido, orina o sangre para el análisis de residuos. La determinación de los periodos de retiro se lleva a cabo siguiendo los principios de Buenas Prácticas de Laboratorio

(BPL) y el cumplimiento de la calidad reconocido por la legislación comunitaria específica en la Directiva 2004/10/CE que establece las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas relativas a la aplicación de las BPL, y al control de su aplicación para las pruebas sobre las sustancias químicas.

Los grupos de animales usados deben de ser lo suficientemente grande para que la evaluación de datos sea significativa. El número de animales recomendado para el muestreo en cada punto de tiempo, para el establecimiento de los LMR, depende de la especie y condición de destino, siendo establecidos de la siguiente manera (FAO/WHO, 2006):

- Animales de gran tamaño: 4 por hora
- Aves de corral: 6 por hora
- Pescado: 10 por hora
- Vacas a pastoreo para la recolección de la leche: 8 animales, incluyendo en diferente lactación (4 vacas de alta y 4 de baja producción)
- Aves ponedoras: la recolección de huevos, consta de 10 huevos por punto de tiempo.

En condiciones habituales los periodos de retiro o tiempo de espera se establecen con base a tres criterios:

i. Peligro que genera el residuo para la salud del ser humano
ii. Condiciones analíticas
iii. Órgano que se ha de analizar y vía de administración

No obstante, estas consideraciones deben tenerse en cuenta para cada producto que tenga acceso al mercado veterinario, pues muy a menudo los vehículos difieren, así como la dosis y las indicaciones terapéuticas. A pesar de que la vida media que se le postula como un elemento de gran utilidad para estimar el

tiempo de retiro de un fármaco, es importante señalar que existen notables variaciones individuales en la farmacocinética de un producto. Entonces, la vida media que se utilice debe ser la más prolongada de las in formadas en la bibliografía o de las concentraciones encontradas en un experimento (Sumano, 2006).

1.3.2 Estudio del Metabolismo.

Se basa en estudios de absorción, distribución, biotransformación y excreción del fármaco en estudio y la aparición de sus metabolitos en animales productores de alimentos, los cuales deben ser resumidos y evaluados teniendo en cuenta las características de los residuos presentes en los tejidos.

El metabolismo del fármaco en estudio depende de su naturaleza química y de su concentración en los tejidos principalmente comestibles (hígado, riñón, músculo, grasa, etc.), para ello es necesario hacer uso de marcadores para cada tipo de fármaco a analizar, dependiendo del LMR par a la matriz en la que se desee estudiar (Adams, 2001)

La biotransformación de fármacos veterinarios posee diferentes potenciales tóxicos. Por lo tanto, la información sobre la naturaleza química, la concentración, el destino metabólico del fármaco en los tejidos comestibles y la persistencia de los residuos totales es necesaria (CE, 2003).

Los estudios de metabolismo de fármacos en una especie objetivo permiten comprobar si el metabolito(s) encontrado en los animales tratados son los mismos que los encontrados en los animales de laboratorio utilizados para las pruebas de toxicidad. Todos los datos disponibles desde cualquier aplicación en la especie objetivo, la especie utilizada (incluso en sistemas in vitro) y, en la medida de lo posible, los datos de toxicidad humana deben ser considerados. Los estudios deben proporcionar los siguientes tipos de información para una evaluación adecuada del metabolismo del fármaco (CE, 2003):

- Naturaleza del metabolito (s):

  - Naturaleza química de los residuos en los tejidos comestibles (músculo, hígado, riñón, grasa) y en los productos (leche, huevos y miel).
  - Influencia de la vía de administración en el perfil metabólico.
  - Relación entre la estructura y las actividades biológicas, si están disponibles.

- La biodisponibilidad del metabolito enlazado (s).
- Caracterización del tipo de unión del fármaco biológicamente relevante.

2. ASPECTOS REGULATORIOS DE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS

La regulación de medicamentos de uso veterinario se orienta a controlar el uso y residualidad de estas sustancias en las especies en las cuales son administradas; estos aspectos son mundialmente vigilados por diferentes organizaciones (Lozano *et al*, 2008; Mac Neil, 2005) dentro de las cuales se destacan:

i. La comisión del Codex Alimentarius, que se encarga de proteger la salud de los consumidores, facilitar prácticas justas en el comercio de alimentos y promover la coordinación de normas alimentarias acordadas por diversas organizaciones.

ii. El Programa Internacional de Seguridad de las Sustancia Químicas (IPCS) establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización Internacional del Trabajo (OIT) y el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), que establece bases científicas para el uso seguro de los químicos.

iii. El Comité mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) que proporciona asesoramiento científico mediante la publicación de monografías y reportes técnicos acerca de la inocuidad de los aditivos alimentarios, la evaluación de los contaminantes, las sustancias tóxicas naturales y los residuos de medicamentos veterinarios.

iv. La administración de alimentos y drogas de los Estados Unidos (Food and Drug Administration - FDA) que además de regular la fabricación y distribución de los medicamentos de uso veterinario a través del CVM (Centro de Medicina Veterinaria), protege la salud de los consumidores garantizando la seguridad de los aditivos alimentarios, productos cosméticos y medicamentos de uso humano y veterinario.

v. La Agencia Europea de Medicamentos (EMEA) cuya misión principal es proteger y promover la salud pública y animal mediante diversas actividades, entre ellas el establecimiento de límites de seguridad para los residuos de medicamentos veterinarios en animales productores de alimentos.

vi. La Autoridad Australiana en Pesticidas y Medicamentos Veterinarios (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority - APVMA) responsable de la evaluación, registro y regulación de plaguicidas y medicamentos veterinarios.

vii. La Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) que participa activamente en la evaluación del riesgo asociada a alimentos.

2.1 Monitoreo de residuos de medicamentos veterinarios

Actualmente las exigencias hacia los sistemas modernos de producción de alimentos están orientados al diseño y gestión para asegurar que la exposición a medicamentos veterinarios en los animales destinados a la producción de alimentos no represente un riesgo para la salud humana. Siendo las entidades comerciales involucradas en la producción y comercialización de alimentos los principales responsables de asegurar la inocuidad de los alimentos. La función de las autoridades competentes es controlar el uso de los medicamentos veterinario, verificar que se estén aplicando las prácticas adecuadas y que haya medidas eficaces establecidas dentro del sistema de distribución de medicamentos veterinarios y de producción de alimentos, a fin de conferir una protección eficaz para la salud del consumidor y asegurar las prácticas equitativas en el comercio de los alimentos, de forma coherente con los objetivos del Codex Alimentarius. Todas las partes también son responsables de proporcionar información y educación al consumidor para facilitar las buenas elecciones de productos alimentarios de origen animal (CAC/GL 71-2009).

La aplicación de un programa basado en el riesgo para todos los tipos de alimentos debería proporcionar los controles y la verificación que sean coherentes con el riesgo que el tipo de alimento en cuestión pueda representar para los consumidores. La aplicación de un enfoque basado en el riesgo a lo largo de todos los grupos de alimentos y clases de peligros debería habilitar una aplicación más enfocada de los recursos en aquellas áreas que tienen las mayores probabilidades de generar mejoras reales en la protección de la salud humana (CAC/GL 71-2009).

Los programas para el control de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos deberían (CAC/GL 71-2009):

i. Estar basados en el riesgo, utilizando perfiles de riesgos realistas, evaluados como riesgos con probabilidades razonables de estar relacionados con alimentos derivados de los sistemas de producción.
ii. Estar centrados en la prevención, basados en los perfiles de riesgos realistas relacionados con el uso probable o comprobado de medicamentos veterinarios aprobados, no aprobados y prohibidos en el sistema de producción.
iii. Incluir medidas reglamentarias proporcionales al riesgo relativo para la salud humana relacionado con estos peligros frente a otros peligros relacionados con los alimentos;
iv. Asegurar que todos los participantes en el sistema de producción, comercialización y procesamiento de los animales y/o de los productos alimenticios derivados de ellos, sean considerados responsables de asegurar que los productos animales que no sean inocuos no sean vendidos como resultado de sus acciones o falta de acciones.
v. Reconocer que los controles y las prácticas previas a la cosecha son los medios principales para asegurar la inocuidad de los alimentos.
vi. Reconocer que la función principal de las auditorías y de los programas de muestreo es verificar la implementación y la eficacia de los controles y prácticas previas a la cosecha.

vii. Concentrarse en aseguramientos basados en los sistemas y las poblaciones.
viii. Ser rentables y tener el apoyo de las partes interesadas.

La inocuidad de los alimentos se logra mediante la implementación de las respectivas reglas aplicadas desde la producción primaria o la importación hasta la venta al por menor o la exportación y requiere la intervención de todos los participantes. Las autoridades competentes deben de verificar la implementación correcta de los programas y, cuando sea necesario (CAC/GL 71, 2009).

La fiabilidad de los resultados de las pruebas de laboratorio es importante para la toma de decisiones de las autoridades competentes. Por lo tanto, los laboratorios oficiales deben usar métodos validados y trabajar bajo principios de gestión de calidad internacionalmente aceptados por ejemplo lo normado por el ISO 17025 (CAC/GL 71, 2009).

2.2 Compuestos a incluir en los programas de monitoreo de residuos de medicamentos veterinarios.

El Codex Alimentarius y otras autoridades regulatorias de inocuidad alimentaria de nivel internacional, tales como EMEA de la Comunidad Europea y FDA de los Estados Unidos, entre otros, han elaborado su propia lista de fármacos regulados, esta incluye los límites de residuos máximos (LMRs) para cada principio activo detallando en qué especie animal (avícola, bovina, caprina, cunícola, ovina, piscícola o porcina) y tejido o subproducto de esta (leche, huevos, grasa, músculo, hígado o riñón) se establece dicho límite. El Codex Alimentarius presenta una lista de los fármacos regulados, clasificados por grupos farmacológicos (Codex-2012), así mismo la comunidad europea presenta un lista oficial de los fármacos divididos en grupos (CCE, 1 990).

El Codex determina prioridades para la consideración de residuos de medicamentos veterinarios en alimentos, así como también los niveles máximos de

residuos de medicamentos veterinarios (LMRMV), entre ellos 66 medicamentos veterinarios actualmente, así mismo desarrolla códigos de buenas prácticas según se requiera y considera métodos de muestreo y análisis para la determinación de residuos de medicamentos veterinarios en alimentos. El consejo de regulación (EEC) N° 2377/90, llevado a cabo en julio del 2012 estableció el Procedimiento de la Comunidad Europea Para el establecimiento de Límite Máximo de Residuo (LMR) de medicamentos veterinario en alimentos de origen animal y sus periodos de retiro, en cuatro anexos (CCE, 1990):

- Anexo I: LMR establecido
- Anexo II: No requiere LMR
- Anexo III: LMR temporal
- Anexo IV: No se puede establecer LMR (los residuos pueden ser peligrosos a cualquier concentración).

∗ Las sustancias no listadas en el Anexo I, II o III están prohibidas.

2.2.1 Compuesto con Límites Máximos de Residuos

Los fármacos veterinarios utilizados en la producción animal, han sido autorizados en base a estudios de análisis de riesgo, mediante los cuales se ha establecido un Límite máximo permisible (LMR), de t al manera que cuando no se supera estos límites se consideran inocuos para el consumo humano. Estas sustancias se agrupan en el Grupo B del Anexo I de la Directiva 96/23/CE:

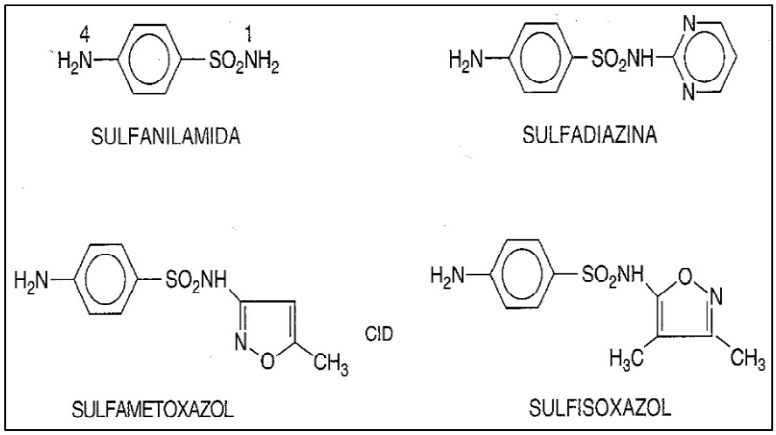
B1. Sustancias Antibacterianas.

a) Sulfonamidas

Las sulfonamidas fueron los primeros agentes quimioterapéuticos eficaces que se emplearon sistemáticamente en la prevención y cura de las infecciones bacterianas (Brunton, 2012).

El término sulfonamida se utiliza como nombre genérico de los derivados de la *para*-aminobencensulfonamida (sulfonamida); las fórmulas estructurales de esta clase se muestran en la Figura 3. Los requisitos estructurales mínimos para su acción antibacteriana yacen en la sulfonamida misma. El grupo SO2NH2 es fundamental y solo puede ser sustituido por fracciones que se conviertan in vivo en un grupo amino libre. Las sustituciones en el grupo amida NH2 tienen efectos variables sobre la actividad antibacteriana de la molécula (Brunton, 2012).

Figura N° 3: Fórmulas estructurales de algunas Sulfonamidas.



Fuente: Brunton, 2012

Quimioterapéutico de acción bacteriostática, efectivo para enfermedades bacterianas y protozoales en medicina veterinaria. Presenta amplio espectro de actividades contra cocos Gram positivos aerobios y numerosos bacilos Gram negativos incluidos entero bacterias (Solís, 2006; Brunton, 2012). Sin embargo, su efecto depende de la dosis, siendo a dosis moderada se comporta como bacteriostática, a concentraciones altas como bactericida y cuando se usa en combinación con Trimetoprim puede ocasionar bacteriólisis (Sumano, 2006).

Entre los factores que afectan la velocidad y el grado de absorción se encuentran el tipo de sulfonamida y la especie animal. Se absorbe mejor en el tracto

digestivo de carnívoros, seguido de las aves y por último de los herbívoros. Se metabolizan principalmente el hígado, y en una pequeña porción en los pulmones, en ambos casos por acetilación, que consiste en la conjugación de un radical acetilo en el grupo p-amino de la molécula de la sulfonamida (Sumano, 2006).

La resistencia mediada por plásmidos es muy común, y existe resistencia cruzada entre sulfonamidas. La resistencia de una bacteria a una sulfonamida generalmente significa que será resistente a las concentraciones bacteriostáticas de las otras sulfonamidas, aunque en el caso de la combinación con Trimetoprim no se presenta esta resistencia cruzada (Sumano, 2006).

En cuanto al tiempo de retiro, los animales lactantes, pueden excretar las sulfonamidas en la leche a concentraciones muy similares a las de la sangre, además se ha demostrado la presencia de sulfonamida s en el huevo (albúmina y yema), así como también en carne de pollo (Sumano, 2006).

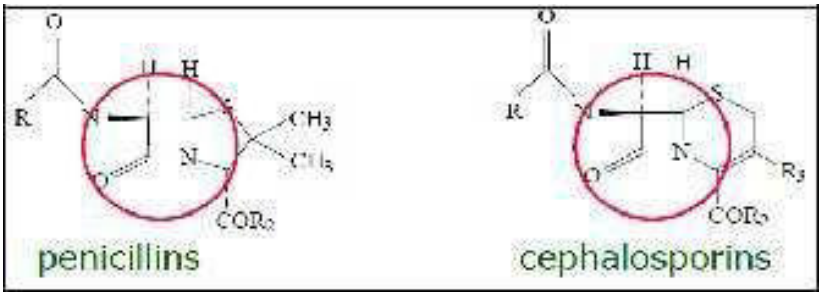
b) Beta-lactámicos

En este grupo se encuentran las penicilinas y las cefalosporinas, las cuales tiene una actividad bactericida que interfiere con la síntesis de la pared celular (Solís, 2006; Adams, 2001). Los beta-lactámicos no son metabolizados en el organismo, pero son rápidamente excretados en un 80 % por vía renal y sin biotransformación (Sumano, 2006).

La estructura de ambas clases contiene una voluminosa cadena lateral unida a:

- Un ácido 6-aminopenicilánico
- Un núcleo de ácido 7-aminocefalosporánico

Figura N° 4: Estructura química de Penicilinas y Cefalosporinas.



Fuente: Brunton, 2012.

• **Penicilinas,** La mayoría de ellas se absorben rápidamente cuando se inyectan por vía intramuscular (IM) o subcutánea (SC) como solución acuosa. Se ha podido obtener concentraciones en sangre entre los 15 a 30 minutos después de su administración. La difusión a los tejidos se produce siempre y cuando la concentración del fármaco libre en el plasma exceda la concentración de los tejidos y los fluidos. Generalmente se consiguen concentraciones elevadas en riñón, hígado y pulmón. Estas drogas apenas pasan al sistema nervioso, pero si atraviesan la barrera placentaria (Adams, 2001).

Las penicilinas de espectro corto, entre ellas están las penicilinas G y V que son usadas en clínica. La penicilina G se presenta comercialmente en forma de sal como benzatínica, procaínica, potásica o sódica, y la penicilina V se encuentra disponible como sal potásica. La Benzilpenicilina (Penicilina G) es particularmente activa contra Gram positivos, esta misma es inactivada por los ácidos gástricos, por lo que no debe ser administrada vía oral (Solís, 2006).

Las penicilinas de amplio espectro, como la ampicilina y la amoxicilina tiene una actividad ligeramente menor que las Benzilpenicilina frente a las bacterias Gram positivas y anaerobios estrictos, pero considerablemente contra bacterias Gram

negativas; aunque su acción es pobre contra *Klebsiella,* algunos *Proteus spp.,* y *Pseudomonas spp* (Solís, 2006).

• **Las cefalosporinas**, perteneciente al grupo de los beta-lactámicos, se clasifican en tres grupos: primera, segunda y tercera generación, la cual está basada en gran medida en el desarrollo cronológico de estos fármacos. Las cefalosporinas se absorben rápidamente por vía intramuscular o subcut ánea, la biodisponibilidad varía con el fármaco utilizado y la especie, siendo su absorción por vía oral muy variable. Estas drogas son eliminadas por excreción renal (Adams, 2001).

c) Quinolonas

Las Quinolonas y Fluoroquinolonas son el grupo de fármacos sintéticos de mayor desarrollo en la actualidad. El sitio de acción es la girasa de DNA o topoisomerasa II, sin embargo cada una de ellas tiene variaciones en su forma de actuar sobre estas enzimas que es esencial para la duplicación del material genético bacteriano (Sumano, 2006).

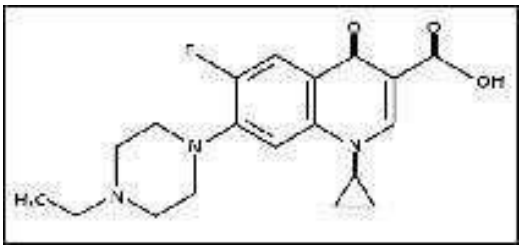
Las Quinolonas interrumpen la unión de la girasa de DNA al material genético, por lo que la inhibición de estos procesos genera el bloqueo de múltiples funciones celulares, muchas de ellas vitales, y de ahí el carácter bactericida de las Quinolonas (Adams, 2001).

Inicialmente tuvo utilidad en el tratamiento de infecciones del tracto urinario, actualmente las Fluoroquinolonas tienen un amplio espectro de aplicaciones en el tratamiento de enfermedades en humanos y en veterinaria. Entre las más destacadas están la Enrofloxacina, Ciprofloxacina, Norfloxacina (Adams, 2001).

La resistencia a las quinolonas se desarrolla con mayor rapidez que hacia las Fluoroquinolonas. Se ha referido la resistencia cruzada de las quinolonas con las Fluoroquinolonas de segunda generación, y se considera posible la resistencia

cruzada entre Fluoroquinolonas, como Enoxacina, Cinoxacina, Ciprofloxacina y Norfloxacina (Sumano, 2006).

Figura N° 5 : Estructura química de las Enrofloxacina



Fuente: Adams, 2001.

d) Aminoglucósidos

Los aminoglucósidos son una clase de antimicrobianos obtenidos a partir de *Streptomyces sp*., *Micromonospora sp*. y *Bacillus sp*. Su estructura determina su actividad antimicrobiana, su toxicidad y la resistencia que generan. El mecanismo de acción de los aminoglucósidos se ha explicado en términos de la unión del antibiótico con una proteína receptora en la membrana bacteriana (Sumano, 2006).

Son activos contra Gram negativos y algunos Gram positivos. Entre las más importantes figuran: Estreptomicina y Dihidroestreptomicina estreptomicina, así mismo existen otros fármacos que se utilizan para e l tratamiento de animales entre ellos están: Neomicina, Framicetina, Tobramicina, Paromomicina, Kanamicina, Gentamicina y Apramicina. Sin embargo la mayoría son mal absorbidos después de la administración oral. Son útiles en el tratamiento de infecciones entéricas. Luego de su aplicación son absorbidos de manera rápida y casi completa, llegando a valores pico alrededor de 30 minutos después (Solís, 2006). Los principales aminoglucósidos son:

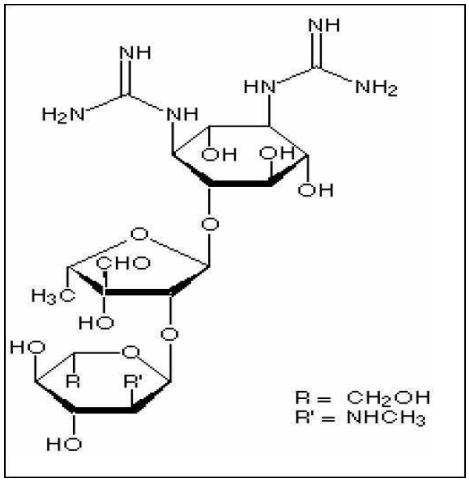
- **Gentamicina**, es una mezcla de tres fracciones: gentamicina C1, gentamicina C2 y gentamicina C_{1A}. se absorbe bien y rápidamente desde los sitios de aplicación vía IM y SC, y tiene biodisponibilidad superior al 90% (Solís, 2006). Aunque l gentamicina no se reparte ni se retiene en la musculatura esquelética, si se produce una retención sustancial en sitio de inyección. En bovinos, la bioacumulación en los tejidos renales es extensa, siendo su concentración a nivel renal de 1500 veces mayor que en el suero (Solís, 2006).

- **Estreptomicina y Dihidroestreptomicina**, son antimicrobianos estrechamente relacionados en su estructura por los que su farmacocinética, el espectro de acción y la actividad biológica son muy similares. Estos fármacos son muy usados para tratar enfermedades bacterianas en el ganado vacuno, porcino, ovino y en la avicultura (Solís, 2006).

- **Neomicina**, tiene actividad contra Gram negativos y algunos Gram positivos, incluyendo *Bacillus anthracis, Coryno bacterium difteriae, Staphylococcus sp.,* y *Streptococcus sp. S*in embargo, su principal acción es contra Gram negativos, en especial *E. coli* y de manera secundaria *Klebsiella sp., Proteus sp., Pasteurella sp., Shigella sp., Salmonella sp., Haemophilus sp., Neisseria sp.,* y *Treponema hyodisenteriae.* La resistencia se genera rápidamente, al igual que con todos los aminoglucósidos, pero si se administran por vía IM las dosis recomendadas, se logran en el suero concentraciones terapéuticas contra *S. aureus, E. coli, Proteus sp.* y *Klebsiella sp.* (Sumano, 2006).

- **Kanamicina**, es producida por *Streptomyces kanamyceticus.* Se absorbe rápidamente por vía IM o SC y alcanza concentracion es aceptables en tejidos a pesar de ser aminoglucósido. Se ha determinado resistencia cruzada con la Estreptomicina y la Neomicina (Sumano, 2006).

Figura N° 6 : Estructura química de Estreptomicina



Fuente: Solís, 2006.

e) Macrólidos

El término macrólido se aplica a la estructura constituida por un anillo lactona macrocíclico, constituyen un grupo de compuestos similares químicamente y resultan del metabolismo de *Streptomyces sp*, con excepción de la mirosamicina, la cual se obtiene a partir de *Micronospora sp* (Sumano, 2006).

Se los considera como bacteriostáticos, pero se sabe que pueden ser bactericidas, en especial contra *Streptococcus sp*., dependiendo de la fase de reproducción bacteriana, la concentración que logren en el tejido afectado y el tiempo de exposición. Son útiles en el tratamiento de infecciones por microorganismos resistentes a las penicilinas, aunque antes de iniciar una terapia con Macrólidos se recomienda realizar pruebas de susceptibilidad en vitro, para determinar el fármaco preciso por utilizar y la concentración mínima inhibitoria que pudiera alcanzar (Sumano, 2006). Antiguamente fue usado para tratar enfermedades respiratorias y como aditivos para piensos como promotor de

crecimiento. Se absorben bien por vía oral (VO), aunque se suelen aplicar por otra vías como son IM, IV, nasal, intraocular (Sumano, 2006).

f) Tetraciclinas

Grupo de antibióticos descubiertos a finales de la década de 1940, son agentes bacteriostáticos, producidos por el actinomiceto *Streptomyces sp.*, ampliamente usados para combatir las enfermedades de origen bacteriano en animales (Sumano, 2006).

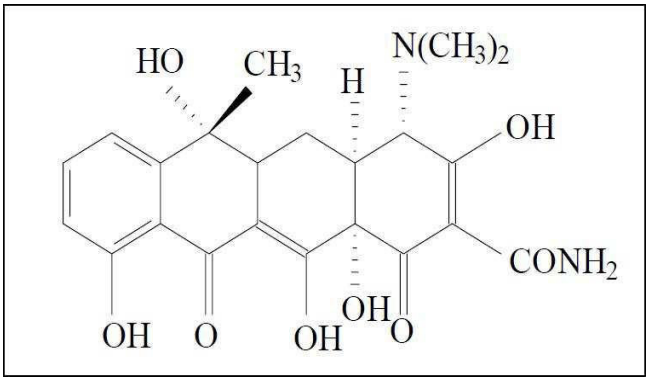
Las tetraciclinas son antibióticos de amplio espectro y como grupo, inhiben el crecimiento de una extensa variedad de bacterias, protozoos y muchos organismos intracelulares tales como los micoplasmas, clamidias y riquetsias (Adams, 2001). Representan más del 60% de los antibióticos de uso veterinario. Usado para el tratamiento de enfermedades respiratorias en vacunos, ovinos, cerdos y pollos, sin embargo la mala dosificación y el incumplimiento del tiempo de retiro puede generar la presencia de residuos en los diferentes subproductos pecuarios. Entre las más importantes son: Oxitetraciclina, Doxiciclina y Clortetraciclina (Adams, 2001).

No se conoce con exactitud su mecanismo de acción antibacteriano, pero se sugieren las siguientes posibilidades como es la quelación activa de cationes intracelulares, inhibición de sistemas enzimáticos, supresión de la síntesis proteínica, al unirse de manera específica a las subunidades ribosómicas bacterianas de 50S y en alguna medida a nivel de la subunidad 30S. Presenta un amplio espectro; actúa eficazmente contra bacterias Gram positivas y en menor grado Gram negativas (Sumano, 2006).

La resistencia bacteriana es mediada por plásmidos, por lo que las bacterias resistentes a un antibiótico del grupo de las tetraciclinas lo son también a las demás del grupo en la mayoría de los casos. Se absorbe en el intestino, se concentran en hígado y se excreta en bilis. Gracias a este circuito entérico-sanguíneo-biliar, las tetraciclinas persisten en la sangre bastante tiempo después de su administración

(Sumano, 2006). La resistencia de los gérmenes gramnegativos (*E. coli* y salmonelas) se ha incrementado en los últimos años a causa de la transmisión de las plásmidas R y debido al empleo constante de las tetraciclinas como aditivos de los piensos (Trolldenier, 1980)

Figura N° 7: Estructura química de las Tetraciclinas



Fuente: Trolldenier, 1980

B.2 Otras drogas Veterinarias

a) Antihelmínticos

Es evidente que la manipulación de las poblaciones animales por el ser humano para lograr una mayor producción de alimentos de origen animal, junto con el uso de la medicina preventiva y curativa, ha roto el equilibrio huésped- parásito, provocando que la parasitosis se transformen en un problema grave, que no sólo repercute en la salud de los animales y del hombre, sino que además afecta económicamente al productor La resistencia de esta clase de fármacos es menos frecuente que los antibióticos (Sumano, 2006). Entre las más importantes están:

• **Benzimidazoles,** en 1950 se estableció el uso potencial de los benzimidazoles como quimioterapéutico en enfermedades parasitarias. Los

antihelmínticos con mayor actividad antihelmíntica son los benzimidazoles y los carbamatos, su actividad está íntimamente relaciona da con el grupo nitro en el anillo benzimidazol (Sumano, 2006).

El mecanismo de acción es más o menos similar en todos los benzimidazoles, y varía según la afinidad que estos tengan en los r eceptores específicos. Sin embargo son antiparasitarios con amplio espectro y margen de seguridad. Se caracterizan por su efecto específico contra nemátodos, sobre todo l ocalizados en el tubo gastrointestinal, pero algunos pueden actuar contra céstodos y tremátodos, tanto en la fase larvaria como en la del huevo. El grado de absorción depende del fármaco, la formulación comerla vía de administración y el grado de infestación del huésped (Sumano, 2006; Adams, 2001). Entre las comunes está n: Albendazol, Fenbendazol, Flubendazol, Mebendazol, Netobimina, Oxfendazol, Oxibendazol, Óxido de Albendazol, Tiabendazol, Triclabendazol (Adams, 2001)

- **Tetrahodropirimidinas,** son un grupo de nematocidas que actúan bloqueando la trasmisión neuroganglionar del parásito, con un efecto de tipo colinérgico despolarizante. Cuando estos fármacos s e han aplicado por vía IV en animales de laboratorio como rata y ratones, ocasionan un bloqueo neuromuscular completo con efecto letal, por lo que no deben administrase por vía sistémica (Sumano, 2006).

- **Imidazoles,** según los primeros informes de su uso datan de 1960 , cuando se descubrió un compuesto aminotiazólico que presentaba acción contra nematodos de las aves, al que se le denominó R6438. Entre ellas están (Sumano, 2006):

Tetramisol, el cual inhibe la colinesterasa y actúa en los músc ulos del parasito ejerciendo un efecto paralizante. En la actualidad ya casi no se expende el fármaco

debido a que sus efectos tóxicos son muy parecidos a los de su isómero levógiro (Levamisol).

Levamisol, estimula los ganglios simpáticos y parasimpáticos del parásito. Puede aplicarse casi por cualquier vía, se absorbe de manera rápida y eficaz, tanto del tubo digestivo como por vía parenteral

Butamisol, es de espectro similar al Levamisol; es más específico pero menos potente y es unas dos veces más toxico que sus otros análogos. Se prefiere administrar por vía oral.

- **Lactonas Macrocíclicas**, son obtenidas de *Streptomyces sp*. Se sabe que tienen efectos antiparasitarios y que sólo actúan contra nematodos y ectoparásitos. Se les llama Macrocíclicas por las características de su estructura química que permite relacionarlas con los Macrólidos, obtenidos también del Streptomyces sp. Se divide en dos familias: Avermectinas y Milbemicinas, ambas familias difieren en su estructura química, espectro y origen (Sumano, 2006).

- **Quinolinas,** como el Prazincuantel, es una droga sintética derivado de la quinolina, es usada para el tratamiento contra la esquistosomiasis y otras infestaciones de seres humanos y animales con trematodos y cestodos (Sumano, 2006).

- **Derivados de Salicilanilidas**: son fundamentalmente fasciolicidas altamente eficaces contra los adultos de *Fasciola hepatica*, pero cuya eficacia contra los estadios inmaduros y contra otros helmintos varía considerablemente. Se fueron introduciendo paulatinamente en la segunda mitad del siglo pasado. Algunos compuestos son también eficaces contra ciertos gusanos nematodos. La mayoría no son eficaces contra helmintos cestodos (tenias). No se conoce del todo el

mecanismo de acción de estos compuestos. Todos son desacoplantes de la fosforilación oxidativa (Sumano, 2006).

b) Anticoccidiales

Usado como aditivo alimentario para prevenir y tratar la coccidiosis. Entre ellos tenemos:

- Ionóforos: Salinomicina, Monensina, Narasina, Maduramicina, lasalocid
- Químicos: Amprolium, Clopidol, Diclazuril, Halofunginona, Toltrazuril, Nicarbazina.
- Otros: Dimetridazole, Ronidazole.

Los residuos pueden encontrarse en tejidos y huevos. El más importante es Nicarbazina, debido al abuso de las empresas avicultoras y a la toxicidad que genera en piel, ojos, tracto digestivo (Sumano, 2006).

c) Carbamatos y piretroides

El Carbamato es un derivado del éster del ácido carbámico. Altamente tóxico para mamíferos, siendo necesario manipularlo con cuidado. Siendo los más comunes: Aldicarb, Benfuracarb, Benomil, Carbaril, Carbendazina, Carbofuran. Los Piretroides son derivados de piretrinas naturales (Crisantemo) (Adams, 2001).

d) Sedantes

Usados para controlar el estrés en animales productores de carne. Puede llegar a producir cambios metabólicos en el músculo y por consiguiente afectar la calidad de la carne. Las alteraciones observadas son: palidez de la carne, consistencia más blanda de lo normal e incremento del exudado resultante de una caída rápido anormal en el pH de la canal después del beneficio. Comúnmente es un problema que afecta la calidad de la carne del cerdo, pero que también afecta

en las canales de bovino, ovino y rara vez en aves de corral. El corto tiempo entre la administración y el beneficio, hace posible encontrar altos niveles de residuos en los tejidos comestibles (Adams, 2001).

e) Antiinflamatorios no esteroidales (AINES)

Son usados rutinariamente en la práctica veterinaria desde comienzos de 1970. A menudo se usan para el tratamiento inicial de trastornos de inflamación. Son comúnmente prescritos para dolor musculo- esquelético, mastitis por coliforme, enfermedad pulmonar y enteritis. No está n autorizados para animales productores de alimentos (Adams, 2001).

f) Otras sustancias farmacológicamente activas

Se incluye a los promotores de crecimiento ilegales algunas veces combinados con β-agonistas/ anabólicos, cuyos efectos son (Adams, 2001):

- Aumento en ingesta de alimentos.
- Aumento en la ganancia de peso
- Aumento en la tasa de conversión alimentaria.

Por lo general la Avoparcina, Virginiamicina y Bacitracina se administran en dosis bajas en el alimento, como promotores de crecimiento, produciendo residuos tisulares tan bajos, que en ocasiones es casi imposible detectarlos. En la mayoría de los caso se desconocen las vías metabólicas por las cuales se activan o inactivan (Sumano, 2006). La Avoparcina se le considera como promotor de crecimiento potencial y es únicamente de uso veterinario, principalmente en pollos y cerdos. Actúa principalmente contra bacterias Gram positivas y se considera de espectro reducido. No se ha informado sobre la aparición de resistencia, debido a que tiene uso terapéutico en humanos (Sumano, 2006).

Sin embargo, se ha retirado de algunos países europeos debido a que aumentaban los casos de resistencia de algunos enterococos; pese a ello, esta medida no está bien fundamentada debido a que han a parecido casos similares de resistencia con la Vancomicina en países en que nunca se había utilizado la Avoparcina, siendo este un caso de resistencia cruzada (Sumano, 2006).

B.3 Otras sustancias y contaminantes ambientales

a) Compuesto organoclorados, incluyendo PCBs

Se incluye: Dioxinas, Furanos, PCB (Bifenilos Policlorados) y Plaguicidas Clorados, cuya fuente puede ser: natural, subproductos de la combustión (principalmente de la gasolina), procesos industriales (Farmacéuticos, plaguicidas, incineradores de residuos municipales), procesos no industriales (calefacción doméstica, como la combustión de la madera). Son hallados en especies ubicados en la parte superior de la cadena alimentaria como aves de presa (águila) y humanos. Se metabolizan lentamente y persisten por años, acumulándose en el tejido adiposo. También se incluyen los contaminantes Orgánicos Persistente (COPs) Las dioxinas es un carcinógeno humano conocido. La exposición a estas sustancias también puede causar graves problemas reproductivos y de desarrollo. Son conocidos por su capacidad para dañar el sistema inmune e interferir con los sistemas hormonales (Adams, 2001).

b) Compuestos organofosforados.

Comprenden un grupo extenso y heterogéneo de compuestos químicos con propiedades insecticidas, acaricidas y helminticidas. Algunos también poseen propiedades herbicidas o fungicidas. Pertenecen a los ésteres del ácido fosfórico, cuya acción es la inactivación de la enzima acetilcolinesterasa, bloqueo del neurotransmisor de la acetilcolina. Ocasiona intoxicación, produciendo: agitación, hiperexcitabilidad, temblores, convulsiones, la reactivación de la enzima puede

tomar de horas a días. Entre los más comunes están: Diazinon, Acefato, Paration metil, Azinfos etil, Dimetoato, Clorpirifos, entre otros (Adams, 2001).

c) Elementos químicos

La contaminación de los pastizales y tierras agrícolas con elementos químicos puede ocurrir por propagación aérea y otros tipos de procesos industriales de fundición, o la difusión de los desechos humanos y animales (lodos de depuradora, estiércol y purines) a la tierra. En ambos casos, la contaminación se da principalmente por los metales pesados, los cuales pueden ser ingeridos por los animales que pastan o consumen forrajes conservados, estos metales pueden pasar posteriormente a la población humana a través *de* la carne u otros productos de origen animal (Miller, 1995). Entre los metales pesados que más figuran están el Cadmio, Plomo, Mercurio, Arsénico (son de alto riesgo para humano) y Cobre (tóxico para los ovinos), los cuales pueden persistir en el ambiente y acumularse en la carne, leche y miel. La Comisión de la comunidad Europea mediante el Reglamento CE-466/2001, menciona que en los últimos diez años, los contenidos de plomo de los productos alimenticios se han ido reduciendo debido a que se aumentó la sensibilización a la población ante el grave problema sanitario que puede representar el plomo. Así mismo la acumulación de cadmio en el cuerpo humano puede provocar afecciones renales, alteraciones óseas y fallos del aparato reproductor, sin embargo no puede descartarse que actúe como carcinógeno.

d) Micotoxinas

Los efectos nocivos tanto para el ganado y los seres humanos derivadas del consumo de granos con moho ha sido reconocido durante siglos Sin embargo, la importancia de las micotoxinas sólo fue reconocido formalmente en la década de 1960 cuando se demostró que la responsable de la enfermedad en aves de corral era la Aflatoxina. Las Micotoxinas son metabolitos secundarios de hongos contaminantes de una amplia gama de plantas de cultivo y frutos antes de la cosecha. Siendo uno

de los contaminantes más frecuentes en un 25% de lo s productos en el mundo, así mismo es responsable de pérdidas económicas (5-10%). Las Micotoxinas más comunes son: las aflatoxinas (aflatoxinB1, B2, G1, G2 en granos y cereales y la M1 en la leche), las fumonisinas (fumonisinB1 y B2), la Ocratoxina A y la Patulina (Tanaka, 2006). Las Aflatoxinas son micotoxinas producidas por determinadas especies de Aspergillus que se desarrollan cuando los niveles de temperatura y humedad son elevados. Las aflatoxinas son sustancias carcinógenas genotóxicas y pueden estar presentes en un gran número de product os alimenticios (CE- 466/2001,
2001)

e) Colorantes

El más común el Verde de malaquita, utilizado en la industria de acuacultura como fungicida, parasiticida y desinfectante debido a su bajo costo y efectividad. Sin embargo es altamente tóxico para células de mamíferos debido a su similitud en estructura al colorante carcinogénico trifenilmetano, siendo catalogado por la Directiva 96/23/CE de la Comunidad Europea potencialmente peligroso para la salud humana.

2.2.2 Sustancias prohibidas.

La Directiva 96/23/CE del Consejo de la Comunidad Europea determinó en base a estudios toxicológicos y carcinogénicos un listado de los contaminantes que no tienen autorización para su uso debido a su alta toxicidad y peligro para la salud humana. Estos compuestos con efecto anabolizante y sustancias no autorizadas están incluidos en el Grupo A del Anexo I de la Directiva 96/23/CE de 1996.

A1. Estilbenos, derivados de los Estilbenos, sus sales y ésteres

Entre las que destacan están; Dietilestilbestrol (D ES), Dienestrol (DE) y Hexestrol (HEX). Estrógenos sintéticos, no esteroidales, descubiertos como

promotores del crecimiento en 1954 y usados como aditivos alimentarios o como implantes en la oreja para promover el crecimiento. Posee efectos carcinogénico, por lo que son prohibidos. El carácter nocivo de los Estilbenos es por su carácter Cancerígeno (cáncer vaginal) en las adolescentes, así como también la presencia de esteroides y sus metabolitos en la carne son peligrosos para la salud de los consumidores por su acción sobre la glándula tiroides de los consumidores, razón por la cual este listado de fármacos está prohibido debido a que genera reacciones nocivas al consumir productos conteniendo estos residuos (DIRECTIVA 96/23/CE, 1996).

A2. Agentes antitiroideos

Destacan: Tiouracil, Metiltiouracil, Propiltiouracil, Tapazol. Inhibe la función de la glándula tiroides, incrementando el llenado del tracto gastrointestinal, y la retención de agua. Afecta la calidad de la carne (más húmeda y menos coloreada), lo cual lleva a un fraude (venta de “agua” por el precio de carne) (Adams, 2001).

A3. Esteroides

Son sustancias (Natural, semisintético y sintético) como la: Boldenona, 17b-19-nortestorenona (nandrolona), Etinilestradiol, 17b-estradiol, 17b-testosterona, Metiltestosterona, 17b-Trenbolona, Estanozolol,, Dexametasona, Megestrol, Melengestrol, Clormadinona, Medroxiprogesterona que estimulan el crecimiento, mejorando la ganancia en la disposición de proteínas y la tasa de conversión alimenticia (DIRECTIVA 96/23/CE, 1996).

A4. Lactonas del ácido resorcilico

Son sustancias que estimulan el crecimiento y presentan actividad estrogénica. Es Formado *in vivo* a partir de las micotoxinas zearalenona y a-

zearalenol producidos por especies de *Fusarium* en granos, entre ellas están: Zeranol, Taleranol, Zearalenona (Adams, 2001).

A5. Beta-agonistas

El modo de acción que presentan es:

- Broncodilatador (comúnmente usado por personas con enfermedad respiratoria o asma).
- Baja el contenido de grasa y aumenta músculo.
- Mejora la conversión alimenticia.

Son sustancias que pueden ser de origen natural, semisintético y sintético: Clenbuterol, Brombuterol, Mapenterol, Tulobuterol, Hidroximetilclenbuterol, Clenpenterol, Cimaterol, Cimbuterol, Isozsuprine, Ritodrin, Salbutamol, Salmeterol, Zilpaterol, Fenoterol, terbutalina, Orciprenalina. El uso de estas sustancias puede generar envenenamiento de origen alimentario (Adams, 2001). Se ha determinado que en dosis de 2 hasta 4 ppm en el alimento, durante el periodo de 2-3 meses produce:

- Aumento en el crecimiento en 20%
- Mejoría de la calidad de carcasa en 10%
- Carcasa con 1/3 menos de grasa.

A6. Compuesto incluidos en el anexo IV del Reglamento (CEE) Nº 2377/90 del Consejo, de 26 de junio de 1990.

• **Cloranfenicol:** Es bien tolerado por los animales, pero su uso clínico en humanos puede causar dosis-dependencia y efectos adversos irreversibles tales como: aplasia de medula ósea y anemia aplásica (DIRECTIVA 2002/657/CE, 2002).

Su estructura química y síntesis se dio a conocer en el año de 1949. Se obtuvo a partir del filtrado de cultivos de *Streptomyces venezuelae* por extracción con acetato de etilo, y actualmente se obtiene a manera sintética. A la fecha, su uso en animales de abasto se encuentra prohibido en medicina veterinaria en muchos países, debido a la toxicidad de sus residuos. Una parte por millón (ppm) es suficiente para inducir anemia aplásica reactiva en individuos susceptibles y, con ello, a menudo un problema que resulta letal (Sumano, 2006).

Su actividad antibacteriana la proporciona el grupo de treopropanediol, y el grupo aromático posiblemente represente la porción tóxica de la molécula, ya que sólo tiene un débil efecto antibacteriano (Sumano, 2006).

El cloranfenicol es activo contra una gran variedad de bacterias Gram positivas y Gram negativas; generalmente es bacteriostático y una buena cantidad de bacterias anaerobias son inhibidas por una concentración fácilmente alcanzada en el organismo con dosis habituales 5 µg/ml (Adams, 2001).

Se postula que la resistencia está relacionada con la administración de antibióticos sin prescripción médica en el alimentoy es mediada por l presencia de plásmidos de resistencia. Sin embargo, es posible que el uso excesivo en medicina humana haya contribuido de manera definitiva al patrón de aumento de resistencias que se observa mundialmente (Sumano, 2006).

- **Cloroformo**: Usado como anestésico de inhalación. Deprime el SNC, carcinogénico, embriotóxico y fetotóxico (Adams, 201).

- **Clorpromazina**: Usado en Medicina Veterinaria para prevenir el estrés, minimizar la muerte e injuria durante el transporte de la granja al camal. Prohibido para uso en animales de producción de alimentos desde 1997 (Adams, 2001).

- **Colchicina**: Alcaloide para tratar papilomas en Medicina Veterinaria, es un genotóxico como la Dapsona que es usado para el tratamiento de mastitis, coccidiosis, endometritis. Efectos tóxicos en humanos: anemia hemolítica, efectos gastro-intestinales y neurológicos (Adams, 2001).

- **Nitrofuranos:** Antibacteriano sintético y hasta la fecha se han sintetizado más de 3500 de ellos. Es un bacteriostático, y en d osis altas actúan como bactericidas. Actúan principalmente contra bacteria s Gram negativas como: *E.coli, Salmonella gallinarum, Salmonella pullorum, Salmonella typhimuriu, Salmonella cholerasuis, Arizona hinhawii Vibrio coli, Haemophilus sp., Klebsiella sp., Enterococcus sp., Citrobacter sp.,* y *Corynebacterium sp*. También actúan contra bacterias Gram positivas, como: *Streptococcus sp., Staphylococcus sp., Bacillus anthracis* y *Clostridium sp.* Algunos protozoarios también son susceptibles como la *Eimeria sp., Histomonas meleagridis* y *Giardia sp.* Así como también posee efecto sobre algunos hongos (Sumano, 2006).

Se absorben poco por vía oral, y la absorción se incrementa cuando se administra con el alimento. Se distribuye ampliamente por el organismo, pero en bajas concentraciones. Alrededor de 50 % de la dosis administrada se elimina en su forma activa en la orina. Se considera que su eliminación es rápida, lo cual hace difícil encontrar residuo, dado que la mayor parte se biotransforma a AOZ en el hígado (Sumano, 2006). Agente mutagénicos y genotóxico. Puede causar tumores en animales de laboratorio. Prohibido para uso en animales que producen alimentos (Adams, 2001).

- **Nitroimidazoles** (Ronidazol, Dimetridazol, Metronidazol): Medicamento antibacteriano y anticoccidial. Sus metabolitos en particular, que tienen una estructura nitrosa, son sospechosos carcinogénicos y mutagénicos (Adams, 2001).

2.3 Normatividad de la Comunidad Andina

Los países andinos como copartícipes de los compromisos de la Cumbre Mundial de la Alimentación, asumieron la tarea de aunar esfuerzos en torno a la definición de acciones conjuntas en materia de seguridad alimentaria. Este compromiso fue adoptado mediante mandato de los Presidentes, durante el Consejo Presidencial Andino del año 2003, en el cual se acordó impulsar líneas de acción estratégicas para el perfeccionamiento del esquema de integración de la región. Dentro de las líneas de acción referidas a la Dimensión Política de la Integración se acordó instruir al Consejo Andino de Ministros de Relaciones Exteriores que establezca los lineamientos de una Política de Seguridad Alimentaria Regional (FAO. 2005).

Con el apoyo y cooperación técnica de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), el desarrollo del proyecto Estrategias e instrumentos para mejorar la seguridad alimentaria en los países de la Comunidad Andina y la participación de representantes de los organismos públicos encargados del diseño y ejecución de políticas relacionadas con la Seguridad Alimentaria en los países andinos y la Secretaría General de la Comunidad Andina, se emprendió a mediados del 2003, un proceso de diálogo y trabajo conjunto mediante talleres y el apoyo de consultores para identificar las prioridades y las bases para la formulación de una política subregional en seguridad alimentaria (TCP-RLA-2909. 2002).

Los países miembros de la Comunidad Andina mediante la primera reunión de los ministros de agricultura llevada a cabo el 8 de Junio del 2009, establecieron en el marco de la Seguridad Alimentaria la Decisión 483 Normas para el registro, control, comercialización y uso de productos veterinarios, con el objetivo de impulsar el desarrollo agropecuario y agroindustrial conjunto, alcanzando de esta manera un mayor grado de seguridad alimentaria en los países miembros, para ello el Acuerdo

de Cartagena estableció a propuesta de la Secretaría General, adopte normas y programas comunes de sanidad vegetal y animal (CCA-DECISIÓN 483, 2000).

El Programa de Seguridad Alimentaria, tiene como propósito la integración andina, mejorando su producción y productividad agropecuaria para elevar el nivel de vida del poblador rural de los países miembros y facilitar al mismo tiempo la atención de los requerimientos alimentarios y nutricionales de la población en procura de la menor dependencia posible de los abastecimientos ajenos a la Comunidad Andina. Sin embargo establece que el mantenimiento y el mejoramiento de la salud animal son indispensables no sólo para lograr el incremento de la producción y productividad pecuaria, sino también para la comercialización y abastecimiento de productos de origen animal sin incrementar el riesgo de difusión de enfermedades, y que los productos veterinarios constituyen insumos necesarios para la salud animal (TCP-RLA-2909. 2002).

Por ello los expertos de los países miembros de la Comunidad Andina, recomendaron mediante la Decisión 483 que se disponga el uso de productos veterinarios con la calidad necesaria y que su empleo sea con total responsabilidad, sin que conlleve riesgo para la salud humana y animal, evitando la contaminación del ambiente.

2.4 Normatividad de residuos de medicamentos veterinarios en el Perú.

2.4.1 Normatividad nacional de inocuidad alimentaria.

El Perú viene rigiéndose por el Decreto Legislativo N° 1062 que Aprueba la Ley de Inocuidad de alimentos establecido el 2008, el cual tiene por finalidad establecer el régimen jurídico aplicable para garantizar la inocuidad de los alimentos destinados al consumo humano con el propósito de proteger la vida y la salud de las personas, reconociendo y asegurando los derechos e intereses de los consumidores y promoviendo la competitividad de los agentes económicos

involucrados en toda la cadena alimentaria, incluido los piensos, con sujeción al ordenamiento constitucional y jurídico.

Actualmente en el Perú se ha establecido mediante e l Decreto Supremo N° 004-2011-AG, el Reglamento de Inocuidad Agroalimentaria, el cual establece el Programa Nacional de Monitoreo de contaminantes en alimentos agropecuarios primarios y piensos. Asimismo el Artículo 1 del Reglamento de Inocuidad Agroalimentaria, tiene como objeto establecer disposiciones para garantizar la inocuidad de los alimentos agropecuarios primarios destinados al consumo humano, así como de los piensos, con el propósito de proteger la vida y la salud de las personas, reconociendo y asegurando los derechos de los consumidores y promoviendo la competitividad de la agricultura nacional, a través de la inocuidad de la producción agropecuaria, así mismo el Artículo 15 del mismo decreto, establece que los alimentos agropecuarios primarios que se consuman en el mercado nacional, incluyendo los importados, no deben exceder los límites máximos permisibles de residuos químicos y otros contaminantes, fijados en la norma nacional o en ausencia de ésta, los establecidos por el Codex Alimentarius.

Este programa está armonizado con el Proyecto de In versión Pública SNIP: 60506 “Fortalecimiento del Sistema de la Inocuidad Agroalimentaria de Producción y Procesamiento Primario”, el cual ha priorizado un listado de contaminantes químicos y microbiológicos de importancia para el país. Sin embargo este año nuevamente se aprobó el 14 de Septiembre del 2012 el Plan Anual de Monitoreo de Residuos Químicos y otros contaminantes en alimentos Agropecuarios y Piensos para el periodo 2012-2013, el cual está en marcha.

Decreto Supremo Nº 034-2008-AG: Reglamento de la Ley de Inocuidad de los Alimentos, tiene por objetivo establecer normas y procedimientos generales para la aplicación y cumplimiento, en concordancia con los Principios Generales de Higiene de los Alimentos del Codex Alimentarius. El ámbito de aplicación y disposiciones del presente Reglamento es que constituyen normas de orden público

y de aplicación a toda persona natural o jurídica, sociedades de hecho, patrimonios autónomos, o cualquiera otra entidad, de derecho público o privado, con o sin fines de lucro, que directa o indirectamente participe en alguna de las fases de la cadena alimentaria de consumo humano en todo el territorio nacional.

Este decreto incluye: Los derechos de los consumidores y obligaciones de los proveedores, así como La vigilancia y control de la inocuidad de los alimentos, además de la Inocuidad de los alimentos y piensos e n el comercio internacional. Las autoridades competentes de nivel nacional se encargan de definir, dirigir, normar y gestionar las políticas nacionales y sectoriales de inocuidad de los alimentos y piensos, la cual se ejerce con criterios de orden técnico-normativo y de la forma que establece la Ley, tomando en cuenta las recomendaciones emanadas de los Organismos Internacionales en materia de inocuidad de los alimentos y piensos. Entre las autoridades competentes están:

- El Ministerio de Salud, a través de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), es la Autoridad de Salud de nivel nacional y tiene competencia exclusiva en el aspecto técnico, normativo y de súper vigilancia en materia de inocuidad de los alimentos destinados al consumo humano, elaborados industrialmente, de producción nacional o extranjera, con excepción de los alimentos pesqueros y acuícolas, contribuyendo a la protección de la salud de los consumidores, promoviendo la disminución de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA).

- El Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), es la Autoridad Nacional en Sanidad Agraria y tiene competencia exclusiva en el aspecto técnico, normativo y de vigilancia en materia de inocuidad de los alimentos agropecuarios de producción y procesamiento primario destinados al consumo humano y piensos, de producción nacional o extranjera. La Autoridad Nacional en Sanidad Agraria ejerce sus competencias en

inocuidad agroalimentaria de producción y procesamiento primario contribuyendo a la protección de la salud de los consumidores y promoviendo la competitividad de la agricultura nacional, a través de la inocuidad de la producción agropecuaria.

- El Instituto Tecnológico Pesquero del Perú (ITP) a través de la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera (SANIPES), es la Autoridad de Sanidad Pesquera a nivel nacional y tiene competencia exclusiva en el aspecto técnico, normativo y de vigilancia en materia de inocuidad de los alimentos y de piensos de origen pesquero y acuícola.

Las autoridades competentes de nivel nacional deben contar con un sistema de alerta que notifique a las partes involucradas cualquier problema sanitario detectado, a efectos de aplicar un Sistema de Alerta Rápida, basado en la información sobre Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA).

2.4.2 Registro de medicamentos veterinarios en el Perú.

El Perú se rige por el Reglamento de Registro y Con trol de calidad de Alimentos Balanceados para Animales aprobado en Decreto Nº 015-98-AG, mediante el Decreto Supremo N° 053-85-AG y por Decreto Supremo N° 0026-91/AG se dictó normas sobre comercialización interna y externa de productos veterinarios. Dada la similitud de los procedimientos y los fines para los cuales están destinados los alimentos y medicamentos veterinarios, se hizo necesario unificar los criterios y adoptar un reglamento sobre registro, comercio y control de productos de uso veterinario y alimentos para animales, de acuerdo a los estándares internacionales en salvaguarda de la salud humana, animal y el medio ambiente y en conformidad con la Ley Orgánica del Ministerio de Agricultura, dada por Decreto Ley Nº 25902 y en concordancia con Ley Nº 26558 se aprobó esta normativa el 22 de julio de 1998. El Capítulo III, establece las Especificaciones Técnicas para el Registro de Productos Veterinarios y Alimentos.

El Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) es la autoridad competente para el Registro y Control de Productos de uso Veterinario y Alimentos para Animales, así mismo es el responsable de velar por el cumplimiento de la Ley General de Sanidad Agraria, aprobada mediante Decreto Legislativo Nº 1059, del Reglamento de la Ley General de Sanidad Agraria, aprobado mediante Decreto Supremo Nº 018-2008-AG.

Sin embargo el SENASA puede delegar o autorizar el ejercicio de sus funciones vinculadas a la evaluación de riesgo de productos veterinarios y alimentos para animales, a personas naturales o jurídicas, de los sectores público y privado, interesadas y debidamente calificadas, para la prestación de los servicios oficiales vinculados con el registro y control de dichos productos, a fin de asegurar el cumplimiento de la Ley establecida.

Cuadro N° 3: Clasificación de Medicamentos Veterinarios según Principio Activo, registrados en el SENASA- PERÜ

GRUPO FARMACOLÓGICO		GRUPO QUÍMICO	PRINCIPIO ACTIVO	CANTIDAD REGISTRADA
1. Agentes Antiinfeciosos	**1.1 Quimioterapéuticos**	**Sulfonamidas**	Sulfaclorpiridazina	4
			sulfadiazina	24
			sulfadimetoxina	14
			Sulfadoxina	2
			Sulfamerazina	2
			Sulfametazina	8
			Sulfametoxasol	3
			Sulfapiridina	1
			Sulfaquinoxalina	7
			Sulfatiazol	7
			Otras Sulfas	41
		Derivados de la diaminopirimidina	Trimetoprim	8
	1.2 Antibióticos	**Penicilinas**	Amoxicillin	46
			Ampicilina	11
			Bencilpenicilina	64
			Cloxacilina	26
			Nafcilina	2
			Oxacilina	26
		Cefalosporinas	Cefalexina	25
			Cefoperazona	1
			Cefquinoma	1
			Ceftiofur	29
		Quinolonas	Danofloxacina	1
			Enrofloxacina	67
			Flumequina	4
			Marbofloxacina	4
			Gatifloxacina	2
		Macrólidos	Eritromicina	7
			Espiramicina	6
			Tilmicosina	10
			Tulatromicina	1
			Lincomicina	24
			Clindamicina	6
			Kitasamicina	1
			Tiamulina	17
			Tilosina	36

		Florfenicol y derivados	Tianfenicol	4
			Florfenicol	41
		Tetraciclinas	Clortetraciclina	12
			Doxiciclina	23
			Oxitetraciclina	121
			Tetraciclina	21
		Aminoglucósidos	Neomicina	41
			Estreptomicina	34
			Apramicina	1
			gentamicina	43
		Polipéptidos	Bacitracina	16
			Virginiamicina	5
		Polimicinas	Polimixina B	5
2. Antiparasitarios	**2.1. Sustancias activas frente a endoparásitos**	**Salicilanilidas**	Closantel	19
			Rafoxanida	4
		Imidazoltiazoles	Levamisol	38
		Benzimidazoles	Albendazol	86
			Febantel	9
			Fenbendazol	55
			Flubendazol	1
			Mebendazol	4
			Oxfendazol	3
			Oxibendazol	1
			Tiabendazol	2
			Triclabendazol	68
		Derivados fenólicos	Oxiclozanida	1
		Bencensulfonamidas	Clorsulon	3
		Derivados de la piperazina	Piperazina	1
	2.2. Sustancias activas frente a ectoparásito	**Organofosfatos**	Diazinon	1
		Formamidinas	Amitraz	16
		Piretroides	Deltametrina	7
			Flumetrina	1
			Permetrina	7
			Cipermetrina	92
			Alfa-cipermetrina	4
		Derivados de la acilurea	Diflubenzuron	2
			Fluazurón	1
		Derivados de triazina	Ciromacina	12

	2.3. Sustancias activas frente a endo- y ectoparásito	**Avermectinas**	Abamectina	6
			Doramectina	5
			Eprinomectina	5
			Ivermectina	174
			Moxidectina	5
	2.4. Agentes que actúan contra lo protozoarios	**Derivados de la triazina**	Toltrazuril	9
		Carbanilidos	Imidocarb	4
3. Sustancias con acción sobre el sistema nervioso (SN)	**3.1. Sustancias con acción sobre el sistema nervioso autónomo**	**Antiadrenérgicos β2-simpaticomiméticos**	Carazolol	1
			Clenbuterol	1
4. Agentes antiinflamatorios	**4.1. Agentes antiinflamatorios no esteroideos**	**Derivado del ácid arilpropiónico**	Carprofen	4
		Derivado del ácid enólico	Meloxicam	11
		Derivados de pirazolona	Metamizol	8
		Derivados del ácid fenilacético	Diclofenaco	25
5. Corticoides	**5.1. Glucocorticoides**	**Glucocorticoides**	Betametasona	5
			Dexametasona	52
			Prednisolona	15
6. Agentes Hormonales	**6.1. Hormonas**	**Progestágeno**	Clormadinona	1
			Altrenogest	1
			Norgestomet	2
			Progesterona	14
		Andrógeno	Estradiol	12
			Zeranol	1
			Tetosterona	2
		Otros	Somatotropina	5
			Acetato de Trenbolona	2
TOTAL				**1713**

Fuente: Servicio de consultas y trámites - Pecuario. Sistema Integrado de Gestión de Inocuidad Alimentaria (SIGIA) de SENASA - Perú.. 2012

Figura N° 8: Clasificación de Medicamentos Veterinarios por grupo farmacológico según Principio Activo

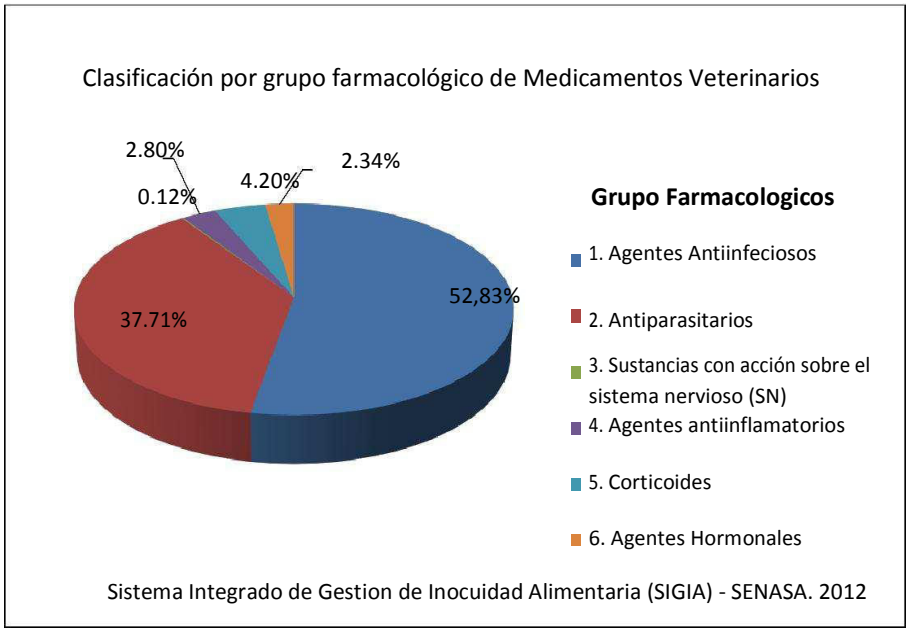


Figura N° 9: Fármacos Antiinfecciosos

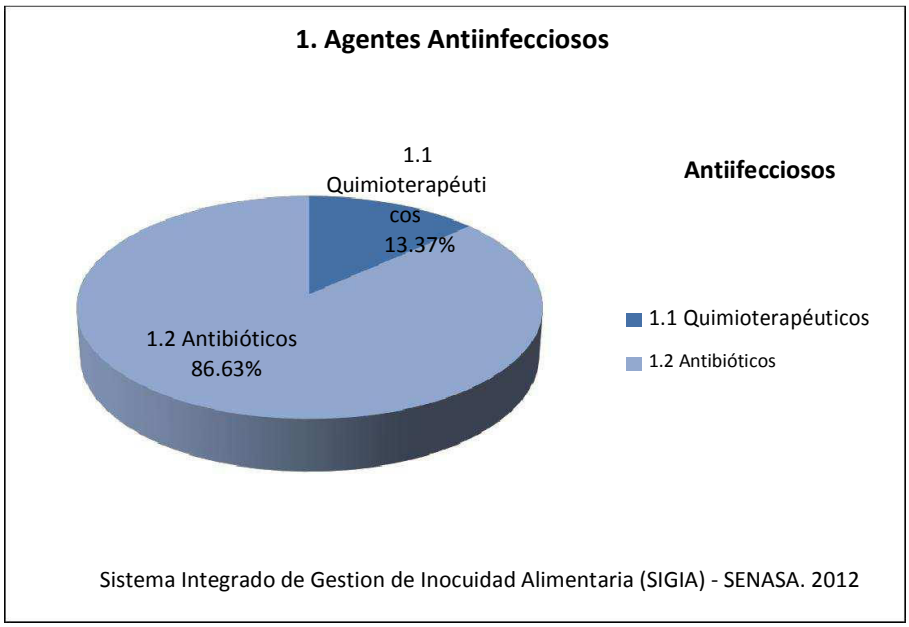


Figura N° 10: Fármacos Quimioterapéuticos

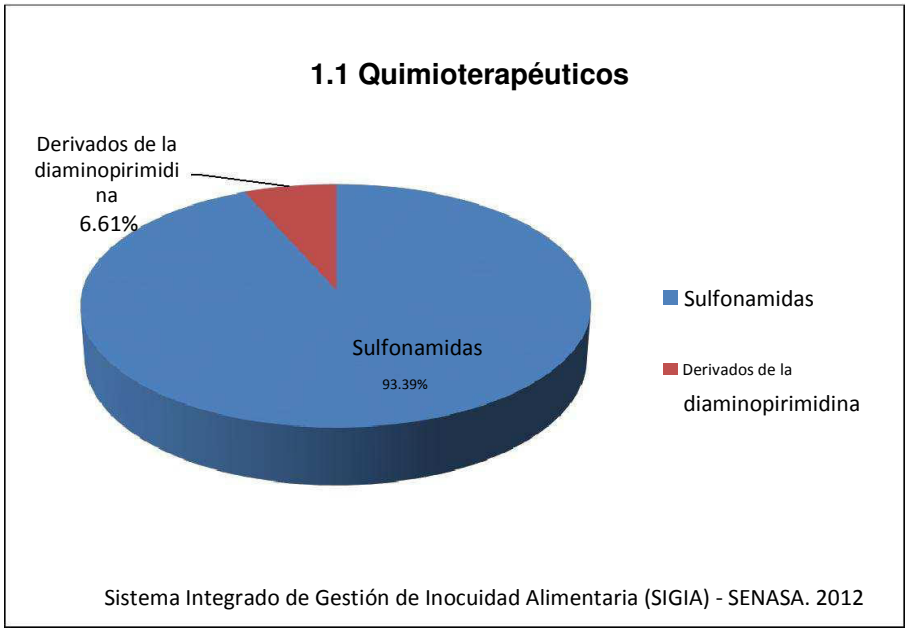


Figura N° 11: Fármacos Antibióticos

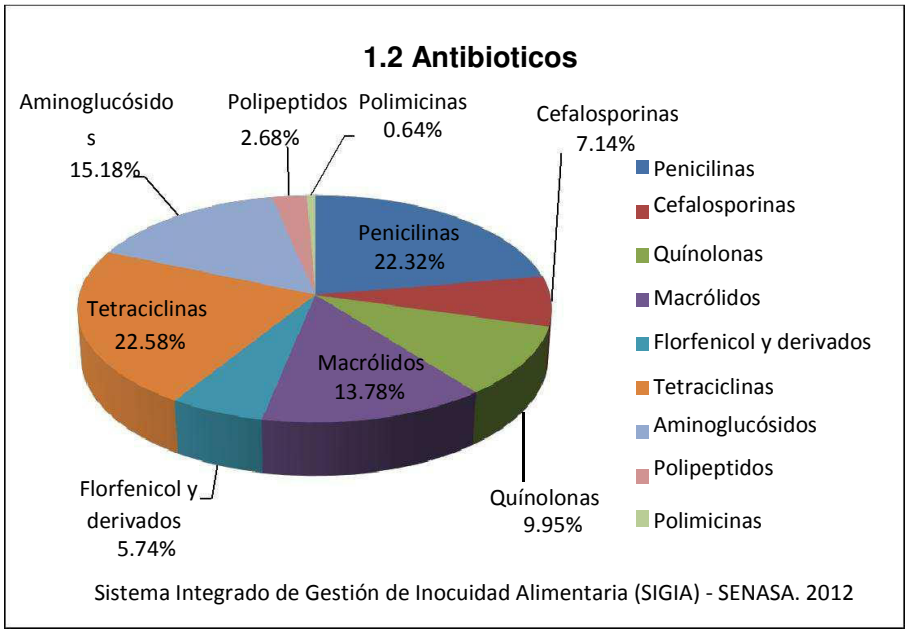


Figura N° 12: Fármacos Antiparasitarios

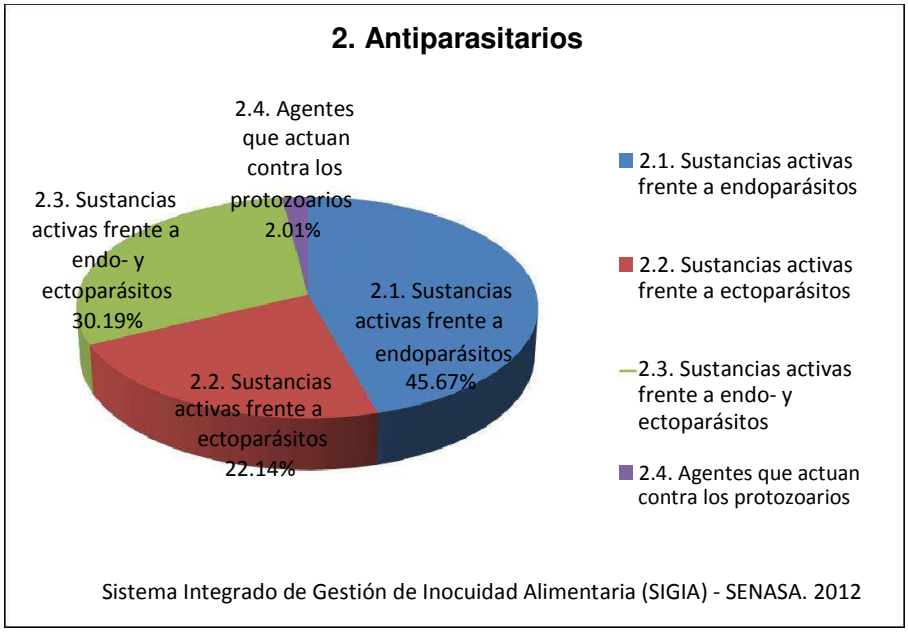


Figura N° 13: Fármacos con acción sobre el Sistema Nervioso

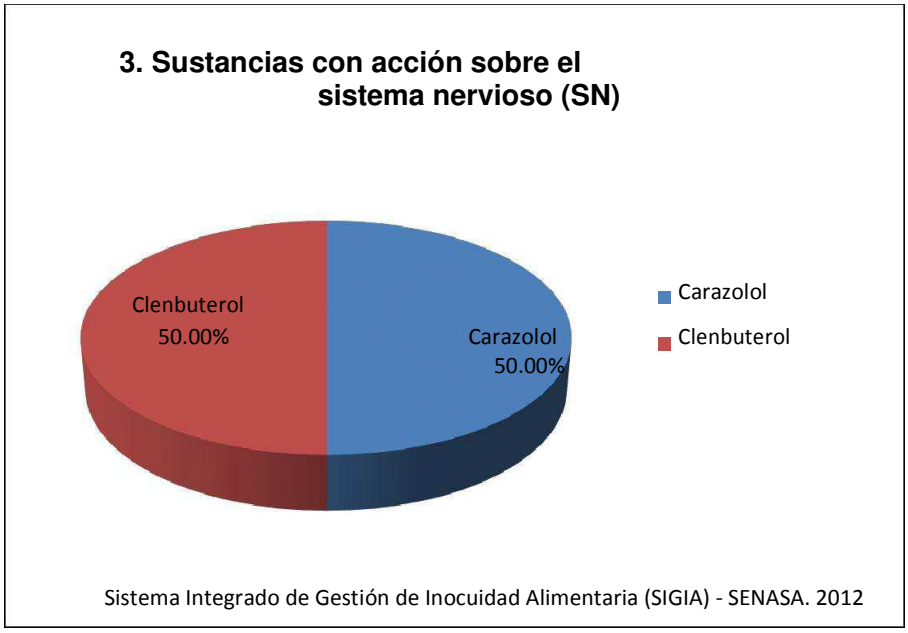


Figura N° 14: Fármacos Antiinflamatorios

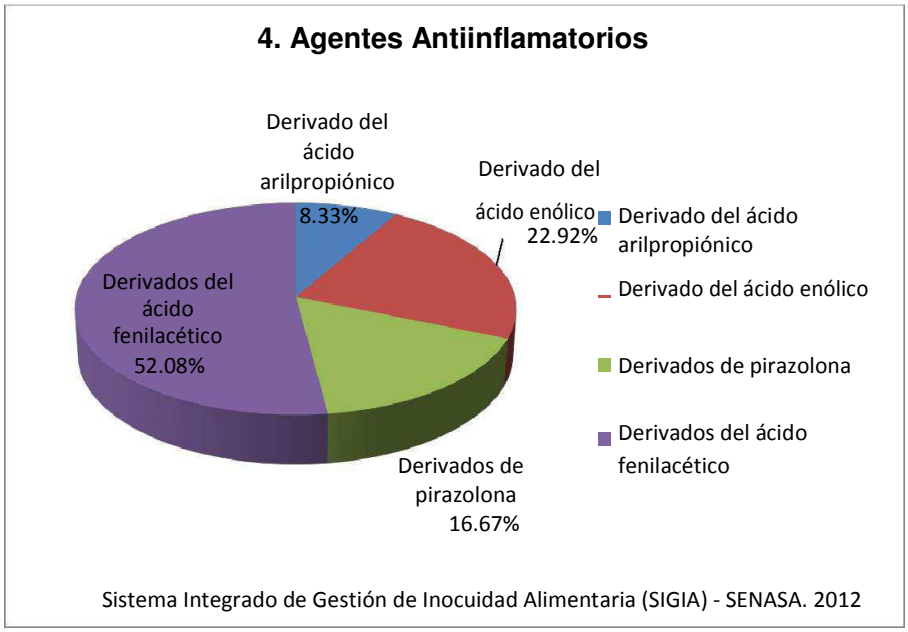


Figura N° 15: Fármacos Corticoides

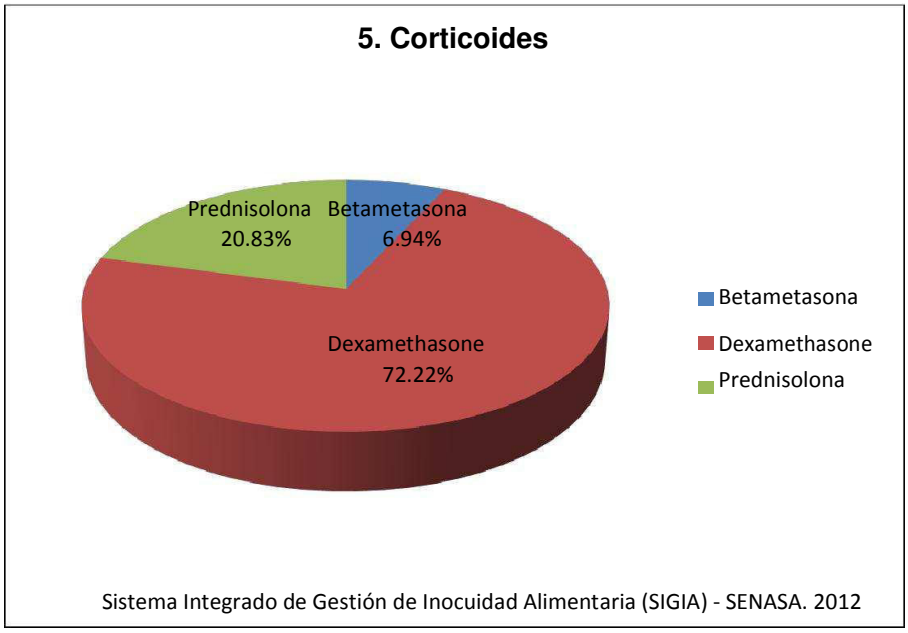
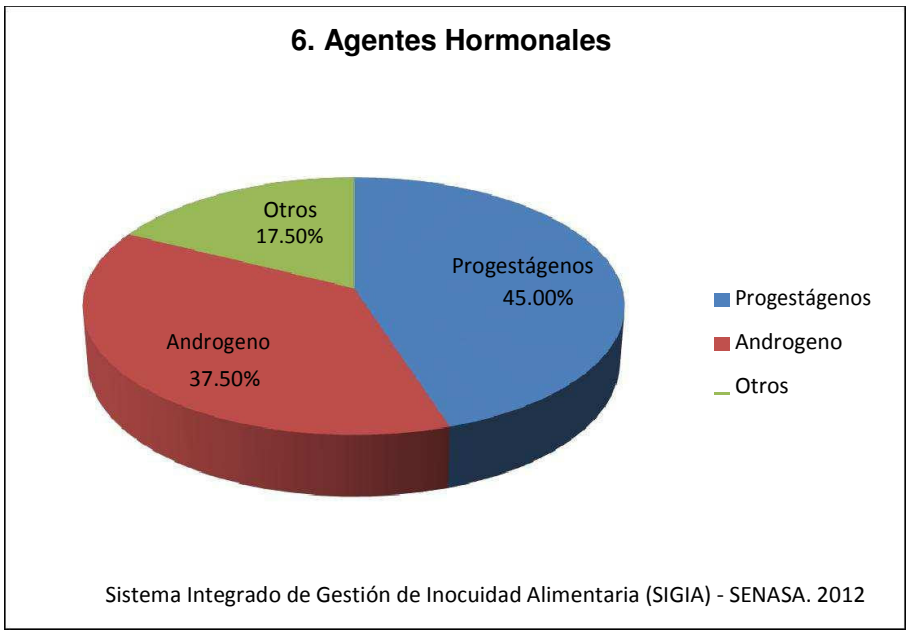


Figura N° 16: Agentes Hormonales



Cuadro N° 4: Fármacos Veterinarios sin LMR Establecidos

PRINCIPIO ACTIVO	CANTIDAD REGISTRADA
Cloranfenicol	1
Metronidazol	6
Furazolidona	1
Nitrofurazona	2
TOTAL	**10**

Fuente: Servicio de consultas y trámites online- Pecuario. Sistema Integrado de Gestión de Inocuidad Alimentaria (SIGIA) de SENASA – Perú. 2012

2.5 Estudios y programas de monitoreo de residuos de medicamentos veterinarios en el Perú.

El Programa Nacional de Monitoreo de Contaminantes, establecido en el Artículo 32° del Decreto Supremo N° 004-2011-AG, menciona que el monitoreo constará de planes anuales que involucren el ámbito geográfico, tipo de alimento, número de muestra a analizar, así como los procedimientos a seguir.

Mediante la Resolución Jefatural N° 0207-2012-AG-SENASA, se establece el Programa Nacional de Monitoreo de contaminantes en Alimentos Agropecuarios Primarios y Piensos, el cual constará de planes anuales en donde se especificará las zonas a muestrear, número de muestras y tipo de alimentos.

Los grupos de sustancias y contaminantes microbiológicos que van a ser sometidos a monitoreo, en el alcance del programa, fueron seleccionados de acuerdo a los registros oficiales del SENASA (plaguicidas químicos de uso agrícola, medicamentos veterinarios y sus correspondientes metabolitos) y agentes contaminantes presentes en alimentos de origen animal y vegetal de mayor preocupación en el ámbito alimentario (FAO, 2009); siendo confrontados con los límites máximos de residuos (LMR) de plaguicidas de uso agrícola o sus metabolitos, medicamentos de uso veterinario o sus metabolitos, metales pesados y con los límites máximos permisibles (LMP) de agentes microbiológicos o sus toxinas, indicados en la normativa nacional o en su defecto en el Codex Alimentarius.

El Programa de Monitoreo de Contaminantes en Alimentos Agropecuarios Primarios y Piensos, tiene como finalidad monitorear los residuos de medicamentos veterinarios (ver Cuadro 5) en muestras de carne (Pollo, Vacuno, Ovino, Caprino, Porcino, Camélidos y Cuy), Leche y Miel. Así mismo establece los lugares destinados para la toma de muestra como son: Área Productiva (agrícola y pecuaria), Mercado de abastos y supermercados (ciudad), Establecimientos de

Procesamiento Primario (agrícola y pecuaria), Puntos de Ingreso al País (importaciones).

Cuadro N° 5: Medicamentos de uso veterinario programados para el monitoreo en el periodo 2012-2013

MEDICAMENTOS DE USO VETERINARIO Y SUS METABOLITOS					
N°	**PRINCIPIO ACTIVO**	**N°**	**PRINCIPIO ACTIVO**	**N°**	**PRINCIPIO ACTIVO**
1	Abamectina	**15**	Emamectina	**29**	Sulfamerazina
2	Albendazol	**16**	Enrofloxacina	**30**	Sulfametazina
3	Albendazol Sulfona	**17**	Eritromicina	**31**	Sulfametizol
4	Albendazol Sulfóxido	**18**	Ivermectina	**32**	Sulfametoxasol
5	AMOZ - Furaltadona	**19**	Levamisol Clorhidrato	**33**	Sulfapiridina
6	Amoxicilina	**20**	Mebendazol	**34**	Sulfaquinoxalina
7	Ampicilina	**21**	Norfloxacina	**35**	Sulfatiazol
8	AOZ - Furazolidona	**22**	Ofloxacina	**36**	Tetraciclina
9	Bencilpenicilina	**23**	Oxitretraciclina HCL	**37**	Tiabendazol
10	Ciprofloxacina	**24**	Prazinquantel	**38**	Tilosina Tartrato
11	Cloranfenicol	**25**	Sulfaclorpiridazina	**39**	Triclabendazol
12	Clortetraciclina HCL	**26**	sulfadiazina	**40**	Triclabendazol Sulfona
13	Doramectina	**27**	sulfadimetoxina	**41**	Triclabendazol Sulfóxido
14	Doxiciclina Hyclato	**28**	Sulfadoxina	**42**	Trimetoprim

Fuente: Resolución Jefatural N°0207-2012-AG-SENASA.

Programa Nacional de Monitoreo de Contaminantes en Alimentos Agropecuarios Primarios y Piensos. SENASA

El alcance del monitoreo fue establecido en función a diez ciudades de diez regiones de las Direcciones Ejecutivas del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) en el país, perteneciente a Arequipa, Cajamarca, Ica, la libertad (Trujillo), Lambayeque (Chiclayo), Piura, Puno (Puno, Juliaca), San Martin (Tarapoto, Moyobamba) y Tacna, para los alimentos de origen vegetal y animal establecidos en el proyecto de inversión pública por el período 2010 – 2013.

El Programa de monitoreo Nacional consta de planes anuales, en donde cada primer trimestre de cada año se publica a través de una Resolución Directoral establecida por la Dirección de Insumos Agropecuarios e Inocuidad Agroalimentaria del SENASA, el Plan Anual de Monitoreo de Residuos Químicos y Otros Contaminantes en Alimentos Agropecuarios Primarios destinados al consumo humano y Piensos; el mismo que establecerá las zonas a muestrear, el número de muestras y el tipo de alimento; así como, los meses en que se ejecutará el monitoreo. El Plan Anual en mención, se elabora en coordinación con las Direcciones Ejecutivas del SENASA; a fin de determinar las zonas de mayor producción, consumo e importancia de los alimentos agropecuarios.

Se ha establecido como criterio para el muestreo en el Programa Nacional de Monitoreo de Contaminantes en alimentos agropecuarios primarios y piensos (2012) la capacidad operativa y efectiva de la toma de muestras, así como la capacidad analítica y diagnóstica, tomando en consideración los factores económicos y la relación costo-beneficio de la implementación del programa para dar cumplimiento al requerimiento del proyecto de inversión pública. Asimismo se pudo establecer el número de muestra a cincuenta para ser extraída por alimento durante un periodo de doce meses. Sin embargo se toma como referencia la metodología establecida por el Codex Alimentarius para la determinación de residuos de medicamentos veterinarios (CAC/GL 71-2009), el cual establece que con una cantidad mínima entre 45 y 59 muestras se llega a un nivel de confianza entre el 90 y 95 %, respectivamente.

La metodología establecida por la autoridad competente (SENASA) en la toma de muestra, menciona que los lugares de muestreo son las áreas productivas, establecimientos de procesamiento primario y puntos de ingreso al país, el cual es realizado por personal capacitado y autorizado del SENASA; asimismo, para el autorizado del SENASA será quien determine el lote a incluir en el muestreo caso de la toma de muestras en mercados de abastos y supermercados, el personal, contando con el apoyo de los Gobiernos Regionales y Locales.

Una vez realizada la toma de muestra por el personal autorizada, se aplicará el procedimiento PRO-SIAG-07: Toma y Envío de Muestras de Alimentos Agropecuarios Primarios y Piensos, para la determinación de residuos de residuos de medicamentos de uso veterinario en el laboratorio de análisis de la Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos de la Oficina de Centros de Diagnóstico y Producción, participante del Programa Nacional y considerado como Laboratorio de Referencia del SENASA.

Las acciones Post Monitoreo, serán tomadas por el S ENASA, como resultado del monitoreo realizado, el mismo está facultado para aplicar las sanciones y medidas sanitarias de seguridad, establecidas en el Decreto Legislativo N° 1062 – Ley de Inocuidad de los Alimentos, Decreto Supremo N° 034-2008-AG– Reglamento de la Ley de Inocuidad de los Alimentos y Decreto Supremo N° 004-2011- AG – Reglamento de Inocuidad Agroalimentaria.

En el Perú, SENASA mediante la Unidad de Centros de Control de Insumos y Residuos Tóxicos (UUCIRT) es el único laboratorio oficial y de referencia, en donde se realiza análisis de residuos de medicamentos veterinarios, plaguicidas, Micotoxinas y metales en alimentos agropecuarios.

Actualmente el SENASA, presenta en su base de datos 6397 sustancias, cuyo principio activo se encuentran registradas en más de un fármaco entre ellas destacan los: Antibióticos, Antiparasitarios, Biológicos, Suplementos vitamínicos, Sales minerales, entre otros. Sin embargo, sólo 1713 pertenecen a Fármacos Veterinarios (Ver Cuadro 3) entre lo que figuran: Agentes Antiinfecciosos, Antiparasitarios, Sustancias con acción sobre el sistema nervioso (SN), Agentes antiinflamatorios, Corticoides y Hormonas (Ver Figura 7) (SIGIA-SENASA. 2012).

En el grupo de los Agentes Antiinfeciosos se ha podido encontrar 905 fármacos (Ver Cuadro 3) representando el 52.83 % del total, donde los Antibióticos

y Quimioterapéuticos representan el 86.63 % (784 fármacos) y 13.37 % (121 fármacos) respectivamente (Ver Figura 8) (SIGIA-SEN ASA. 2012).

De los antibióticos registrados tenemos: Tetraciclinas (22.58%), Penicilinas (22.32%), Aminoglucócidos (15.18%), Macrólidos (1378%),. Quinolonas (9.95%), Cefalosporinas (7.14%), Florfenicol y Derivados (5.74%), Polipeptidos (2.68%) y Polimixinas (0.64%) (Ver Figura 10). Así mismo en el grupo de los Antiparasitarios tenemos 646 fármacos, siendo 295 Sustancias activas que actúan frente a endoparásitos (45.67%), siguiéndole 195 Sustancias activas frente a endo- y ectoparásitos fármacos (30.19%), 143 Sustancias activas frente a ectoparásitos (22.14%) y 13 como Agentes que actúan contra los protozoarios (2.01%) (Ver Figura 11) (SIGIA-SENASA. 2012).

Actualmente se encuentran registrados 10 fármacos entre ellos Cloranfenicol, Metronidazol, Furazolidona y Nitrofurazona, los cuales se les ha considerado como fármacos sin LMR establecido, por su carácter toxicológico (Ver cuadro 4) (SIGIA-SENASA. 2012). Así mismo en el grupo de fármacos con acción sobre el sistema nervioso, representado por Clenbuterol y Carazolol, se ha encontrado un registro por cada uno de los mismos (Ver Figura 12). Los Agentes antiinflamatorios representan el 2.81% de los fármacos registrados, siendo los derivados del ácido fenilacético (Diclofenaco) los que se encuentran en mayor proporción (52.08%) (Ver Figura 13).

El Corticoide registrado en mayor número es la Dexametasona, representando el 72.22% (52 fármacos) de este grupo (Ver Figura 14). Entre los Agentes Hormonales registrados encontramos a los Progestágenos representando el 45.00%, andrógenos 37.50% y Otros el 17.50% del este grupo (Ver Figura 15).

3. METODOS DE ANÁLISIS DE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS

Los métodos de análisis utilizados para determinar el cumplimiento de los Límites Máximos de Residuos para Medicamentos Veterinarios (LMRMV) deben ser los más adecuados y para el uso rutinario por p arte de los laboratorios oficiales y de referencia para los programas de control oficial para la evaluación de todos los residuos de medicamentos veterinarios y otras sustancias que pudieran ser utilizadas como medicamentos veterinarios, esto incluye ciertos plaguicidas que tienen usos veterinarios y que pudieran estar presentes como residuos en los productos (CAC/GL 71-2009).

Estos métodos pueden utilizarse para el análisis de muestras de evaluación seleccionadas al azar en un programa de control reglamentario nacional para determinar el cumplimiento con los LMRMV establecidos, para el análisis de muestras elegidas como objetivo cuando haya motivos para sospechar el incumplimiento con LMRMV o para la recopilación de datos a utilizarse en la estimación de la Ingesta (CAC/GL 71-2009).

Los métodos de análisis son de carácter cualitativo o semicuantitativo y se utilizan como métodos de selección para identificar la presencia (o ausencia) de muestras de un hato o lote que pudieran contener residuos que sobrepasen un LMRMV o algún otro límite de medidas reglamentarias establecido por una autoridad competente (CAC/GL 71-2009).

Es posible que algunos de los métodos no proporcionen información adecuada para definir con exactitud la concentración presente o para confirmar la estructura de un residuo pero pueden utilizarse para determinar rápidamente qué productos requieren una evaluación más a fondo y qué productos pueden considerarse aceptables. Podrían aplicarse a una muestra en el punto de entrada en la cadena alimentaria, en el lugar de inspección o al momento de recibir una

muestra en el laboratorio para determinar si la muestra contiene residuos que pudieran sobrepasar un límite reglamentario. Tales métodos por lo general proporcionan una eficacia analítica mayor, algunas veces pueden realizarse en entornos fuera del laboratorio y el costo de su uso puede ser menor para los programas de control reglamentario que el de las pruebas realizadas dentro de un laboratorio. El uso de los métodos de selección permite que los recursos del laboratorio se concentren en el análisis de muestra s supuestamente positivas (sospechosas) identificadas utilizando estas pruebas (CAC/GL 71-2009).

Estos métodos, que debieran tener un índice definido y bajo de resultados negativos falsos, no deberían utilizarse solos para efectos del control de residuos en muestras oficiales sin la disponibilidad de métodos cuantitativos y/o de confirmación debidamente validados a aplicarse a cualquier muestra identificada a encontrarse posiblemente fuera de cumplimiento con un LMRMV (CAC/GL 71-2009).

3.1 Métodos de screening.

Los laboratorios de control hacen frente a un gran número de muestras, con una variedad de analitos, para ser analizadas en períodos de tiempo relativamente cortos. Por lo tanto, hay una necesidad de hacer uso de los métodos de cribado o screening, que permitan el análisis de un gran número de muestras en períodos de tiempo cortos, lo cual lleve a un alto rendimiento del procesamiento y análisis de muestras con métodos de bajo costo y de libre disposición (Toldrá y Reig, 2006).

Estos métodos deben ser capaces de detectar un analito o clase de analitos en el nivel de interés. Algunos falsos positivos son aceptables, ya que pueden nuevamente ser analizados por el método de confirmación correspondiente, sin embargo, se debe de evitar o reducir al mínimo el número de falsos negativos debido a que serían muestras que no llegarían a ser analizadas por un método confirmatorio (Toldrá y Reig, 2006).

3.1.1 Ensayo Ligado a Inmunoabsorbente-ELISA

El Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA) es una técnica comúnmente utilizada para la determinación de analitos conocidos, por ejemplo: alérgenos alimentarios, pesticidas, herbicidas, PCB (Bifenilos Policlorados) y residuos de medicamentos veterinarios (Samarajeewa *et al*, 1991; Thompson, 2010,).

Es una técnica inmunológica de Reacción antígeno y anticuerpo que ha sido utilizada durante muchos años para detectar una amplia variedad de componentes de los alimentos incluidas las sustancias responsables de las adulteraciones y contaminaciones. La interacción antígeno-anticuerpo es muy específico y útil para la detección de residuos químicos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal. La técnica más habitual consiste en el Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA) y el sistema de detección se basa en las enzimas marcadas. (Toldrá y Reig, 2006)

El ELISA se utiliza habitualmente en la investigación científica, la medicina veterinaria, aplicaciones ambientales y agrícolas, y en la asistencia sanitaria. El principio fundamental de la prueba ELISA es que el analito diana (el antígeno) sea reconocido con una alta especificidad por los anticuerpos, que son proteínas producidas por el sistema inmune. El sistema inmune de los animales produce anticuerpos en respuesta a la presencia de antígenos. Estos anticuerpos pueden reconocer y unirse a los antígenos, lo cual es la base de la detección. (Thompson, 2010).

Actualmente la industria láctea viene supervisando la presencia de residuos de antibióticos mediante pruebas rápidas para su determinación, respetando los límites establecidos por las organizaciones reguladoras. Dada la preocupación sobre la contaminación de productos lácteos con residuos de antibióticos, se determinó la utilidad de esta prueba como herramienta para la detección de residuos

de antibióticos en los productos lácteos en polvo. (Kneebone *et al*., 2010). Asimismo diversas instituciones homólogas del SENASA en Perú encargadas del monitoreo de residuos de contaminantes (Medicamentos veterinarios, Plaguicidas y Micotoxinas) en alimentos agropecuarios vienen usando el ELISA como una prueba cualitativa para la detección rápida de estos contaminantes.

Existen diferentes formatos para la cuantificación de antígeno:

- **ELISA sándwich**, en donde un anticuerpo primario que está unido a la placa de pocillos se une con el antígeno del extracto de la muestra que es añadido, formándose un complejo, el cual permanecerá unido a l pocillo después del lavado. Luego un segundo anticuerpo marcado con una enzima como peroxidasa se añade al pocillo seguido de un nuevo lavado. La cantidad de conjugado unido a la placa se detecta después de la incubación con un sustrato específico, dependiendo del analito que se desee determinar. El color se desarrolla durante el proceso de incubación, este es medido posteriormente con un lector de microplacas, el cual es proporcional a la cantidad de analito en la muestra (Toldrá y Reig, 2 006).

- **ELISA de competencia directa**, en donde el anticuerpo primario se reviste sobre los pocillos de la placa y se incuba con el extracto de muestra que contiene los antígenos. Una vez que se alcanza el equilibrio, se añade un antígeno marcado con enzima. Este conjugado se une a los sitios de unión libres del anticuerpo primario. Posteriormente se añade el sustrato específico adecuado, para luego incubar durante el desarrollo del color. En este caso, hay una relación inversa entre el color desarrollado y la concentración del analito en la muestra (Toldrá y Reig, 2006).

Los kits de ELISA ofrecen importantes ventajas como el gran número de muestras a ser analizado por kit, rápido de usar y su alta especificidad y la sensibilidad en comparación a otros métodos de detección convencional. Otra

ventaja es la posibilidad de utilizar la kit dentro de la instalación de procesamiento de alimentos sin la necesidad de transportar la muestra al laboratorio (Toldrá y Reig, 2006).

Existen muchas empresas de diagnóstico que comercializan kits de ELISA para la detección de residuos. Así mismo, existen kits ELISA disponible para un gran número de sustancias dentro de cada grupo como : β-Agonistas, Corticoides, Esteroides, Estilbenos, Lactonas y otros antibióticos (Toldrá y Reig, 2006).

Actualmente existen kits de ELISA que muestran buenos resultados para la determinación de residuos de antibióticos como la Tilosina y la Tetraciclina en agua, carne (De Wasch *et al.,* 2001 y Draisci *et al*, 2001) Cloranfenicol en leche y carne (Gaudin *et al*., 2003), los Nitroimidazoles en huevos y pollo (Huet *et al*., 2005), Gentamicina en leche (Jin *et al*., 2005), y Dihidroestreptomicina, Colistina, Bacitracina, Spiramicina, Tilosina (Elliott *et al*, 1998).

En general, estos métodos requieren algún tiempo de operación manual para la adición de la muestra, la incubación, el lavado y el descarte de líquidos, reactivos para el desarrollo de color, lo que tiene impulsado el desarrollo de las pruebas de ELISA automatizadas por algunas empresas (Toldrá y Reig, 2006).

3.1.2 Cromatografía en capa fina (TLC)

La cromatografía en capa fina (TLC) es una técnica analítica rápida y sencilla, muy utilizada en un laboratorio de Química Orgánica, lo cual permite:

- Determinar el grado de pureza de un compuesto.
- Comparar muestras.
- Realizar el seguimiento de una reacción

El desarrollo de la técnica de cromatografía de capa fina se da mediante la penetración del eluyente de la mezcla a lo largo de la capa y en su avance transporta las sustancias aplicadas en la dirección del flujo. A causa de las interacciones entre muestra, fase móvil y fase estacionaria, las sustancias se separan en sus componentes individuales (Aerts M *et al*,. 1995) Para desarrollar los procesos cromatográficos, se requiere disponer de cámaras cromatográficas o "tanques" debiendo estimarse el tamaño y la forma por el tipo de placa a utilizar y también el tipo de cromatografía, permitiendo así el desarrollo simultaneo de varias placas. La técnica de elución más utilizada es el método creciente lineal, aunque existen autores que describen un método bidimensional lineal, sobre todo cuando se trata de muestras de piensos y premezclas.

La cromatografía en capa fina pertenece a la categoría "Cromatografía de líquidos" y el principio de funcionamiento es el mismo que el de la cromatografía en papel. La diferencia entre ambos procedimientos se encuentra en la fase estacionaria, que en el caso de la cromatografía en capa fina se compone de materia pulverizada como la alúmina, gel de sílice o celulosa que se sitúan sobre placas de vidrio. Las ventajas de la cromatografía en capa fina son un tiempo de ejecución rápido y una alta muestra de comprobación.

3.1.3 Métodos microbiológicos

Los métodos microbiológicos, se basan en la detección de la inhibición del crecimiento de microorganismos sensibles a los residuos antimicrobianos que pueda presentar la leche u otros tejidos. Aprovechan fundamentalmente la capacidad de las bacterias de producir ácido, reducir colorantes o producir halos de inhibición en un medio de cultivo, de manera que el resultado se puede interpretar visualmente.

Hoy en día, la mayoría métodos microbiológicos utilizados en análisis de residuos de antimicrobianos se basa en la difusión en gel agar y algunos métodos

son basados en la inhibición del crecimiento en medios líquidos Las pruebas microbiológicas no son específicas, lo que indica sólo la presencia de un agente inhibidor. Métodos físico-químicos son específicos y cuantitativos pero puede llevar mucho tiempo si la identidad del antimicrobiano no se conoce antes de comenzar el trabajo. Por lo tanto, es necesario realizar una prueba posterior para la caracterización preliminar del residuo (Myllyniemi, 2004)

- **Prueba de matriz**

Mediante esta prueba, los análisis de residuos se pueden realizar antes o después de beneficio. La mayoría de los procedimientos de selección de matrices utilizan antimicrobianos post-sacrificio, pero antes del sacrificio se pueden usar matrices como el suero y la orina (Myllyniemi, 2004.)

Los ensayos de inhibición se realizan en general directamente sobre la propia muestra sin las medidas de aislamiento preliminares. La muestra puede aplicarse directamente al medio. Farmacocinéticamente se describe cómo se comporta el fármaco en el cuerpo, es decir, absorción, distribución, metabolismo y eliminación, como se refleja en el curso del tiempo las concentraciones de fármaco en plasma o tejido. Para seleccionar una matriz de prueba adecuado, los datos farmacocinéticos sobre los antimicrobianos son necesarios (Myllyniemi, 2004.)

- **Prueba de bacterias**

Es una prueba microbiológica, usado para un determinado antimicrobiano, depende principalmente en la sensibilidad innata de la bacteria de ensayo. El uso de suspensiones de esporas en lugar de organismos vegetativos da resultados muy reproducibles. *Bacillus subtilis* ha sido ampliamente utilizado debido a su de sensibilidad a una amplia gama de antimicrobianos, y porque comercialmente se encuentran suspensiones de esporas disponibles. *Bacillus megaterium* es el organismo de prueba en el Becerro para pruebas de sensibilidad de Sulfas. Cepas

de *Bacillus cereus* se han utilizado también para detectar residuos de tetraciclina (Myllyniemi, 2004.)

- **Pruebas de difusión en agar**

En las pruebas de difusión en agar, se inoculan en forma normalizada, aplicándose la muestra sobre la superficie del agar . Durante las primeras horas de difusión, la concentración del antimicrobiano en unmedio de agar en el borde de la muestra es relativamente alta y disminuye bruscamente a distancias crecientes desde la muestra. Como la difusión progresa, la pendiente del gradiente de concentración va disminuyendo. En la primera difusión procede radialmente de la fuente. Cuando la parte inferior de la capa de agar es alcanzada, la dirección se vuelve hacia lateral. El espesor de la agar está inversamente relacionado con el tamaño de la zona. A cierta distancia, en particula de la muestra, el antimicrobiano se diluye hasta un punto que ya no inhibe crecimiento microbiano, formándose una zona de inhibición. La velocidad de difusión a través de un gel de agar por ejemplo, depende de la concentración de fármaco en la muestra, el tamaño y la forma de la molécula antimicrobiana, la viscosidad del gel de agar y la temperatura (Myllyniemi, 2004.)

3.2 Métodos cuantitativos

El método cuantitativo presenta como característica funcional la selectividad el cual indica la capacidad de un método de análisis d e detectar y distinguir la respuesta de la señal de un compuesto en la presencia de otros compuestos que pudieran estar presentes en el material de muestra; es de particular importancia en la definición de las características funcionales de los métodos utilizados en los programas de control reglamentario para los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Los métodos cuantitativos proporcionan información que puede ser utilizada para determinar si los residuos en una muestra en particular sobrepasan un LMRMV o algún otro límite de una medida reglamentaria, pero no proporcionan una confirmación inequívoca de la identidad del residuo. Estos

métodos, que proporcionan resultados cuantitativos, deben funcionar con un buen control estadístico dentro de una escala analítica que comprenda el LMRMV o límite de la medida reglamentaria (CAC/GL 71, 2009).

Hay dos aspectos que deben tomarse en consideración, la capacidad del método de proporcionar una respuesta de señal que esté exenta de interferencias de otros compuestos que pudieran estar presentes en una muestra o extracto de muestra, y la capacidad del método de identificar sin lugar a duda la respuesta de una señal como una respuesta exclusivamente relacionada con un compuesto específico (CAC/GL 71, 2009).

Para un método cuantitativo, el requisito es que la señal utilizada para la cuantificación debería estar relacionada solamente con el analito elegido como objetivo y no contener contribuciones para los materiales coextraídos. Los análisis cromatográficos basados en picos que no tienen una buena resolución proporcionan resultados cuantitativos menos fiables (CAC/LMR 2, 2011).

El uso de detectores para elementos específicos, longitudes de onda de detección o detectores selectivos de masas que son más específicos a un compuesto o estructura particular, junto con la separación cromatográfica, mejoran la selectividad de los métodos cuantitativos para el análisis de los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos (CAC/LMR 2, 2011).

3.2.1 Cromatografía Liquida de Alta Performance (HPLC)

El uso de la Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) se expandió desde la década de 1990 y la disponibilidad de automatización de alguna manera facilita su uso como la técnica de cribado. La HPLC es una técnica de separación y su capacidad para detectar compuestos depende del tipo de detector utilizado. La elección del sistema de detección es muy importante para la selectividad y la sensibilidad. Algunos analitos no se detecta por absorbancia, índice de refracción o

fluorescencia ya que pueden requerir modificaciones químicas para hacer compuesto cromóforos, fluorescentes o de absorciónde UV.

Usualmente, la detección de múltiples residuos se basa en una limpieza durante la extracción en fase sólida, seguido por una filtración y la inyección en fase reversa en HPLC con detección UV con arreglo de diodos. Se ha aplicado para la detección de medicamentos veterinarios en la carne, riñón, leche, huevos y pescado (Toldrá y Reig, 2006).

La HPLC con fluorescencia se ha utilizado para la determinación simultánea de diez quinolonas en tejido animal de diferentes especies (Verdon, 2005). Sin embargo la HPLC, resulta la más indicada para el an álisis de antibióticos en pescados, dado que se caracterizan por ser termolábiles y polares.

El HPLC es cada vez más usado por los laboratorios de control debido a la posibilidad de analizar simultáneamente múltiples residuos en una muestra en un tiempo relativamente corto. El reciente desarrollo de su alta velocidad de detección puede reducir el tiempo empleado en el tratamiento de la muestra y análisis. Esta herramienta diagnóstica está totalmente automatizado (inyección, elución, el lavado de la columna, detección) y controlado por el ordenador, lo que facilita su uso como una técnica de cribado (Verdon, 2005).

3.2.2 Cromatografía de Gas (GC)

En Cromatografía de Gases (GC), es una técnica cuantitativa muy usada por los laboratorios de diagnósticos de trazas para los programas de monitoreo, en donde la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna (Santos y Galcerán, 2002).

Existen dos tipos: la Cromatografía Gas-Sólido (GSC) y la Cromatografía gas-líquido (GLC), siendo esta última la que se utiliza más ampliamente, y que se puede llamar simplemente Cromatografía de Gases (GC). La GC tiene dos importantes campos de aplicación. Por una parte su capacidad para separar mezclas orgánicas complejas, compuestos organometálicos y sistemas bioquímicos. Su otra aplicación es como método para determinar cuantitativa y cualitativamente los componentes de la muestra (CAC/GL 71, 2009).

Para el análisis cualitativo se suele emplear el tiempo de retención, que es único para cada compuesto dadas unas determinadas condiciones (mismo gas portador, rampa de temperatura y flujo), o el volumen de retención. En aplicaciones cuantitativas, integrando las áreas de cada compuesto o midiendo su altura, con los calibrados adecuados, se obtiene la concentración o cantidad presente de cada analito (CAC/GL 71, 2009).

3.3 Métodos confirmatorios.

Los métodos cuantitativos de confirmación más sensibles generalmente usados para la detección de residuos de medicamentos veterinarios incluyen cromatografía de gases (GC) y la espectrometría de masas (MS) (Aerts *et al*., 1995 y McCracken *et al*., 2000). Estos métodos químicos normalmente proceden de una extracción preliminar con el fin de aislar los analitos de interés de la matriz biológica. Los principales objetivos de tratamiento de la muestra son la eliminación de macromoléculas y otros constituyentes que, puede afectar negativamente el sistema cromatográfico e interferir con la detección, el enriquecimiento de los analitos con el fin de alcanzar los límites requeridos de detección bajos y su posterior lectura (Aerts et al., 1995). Los métodos de confirmación proporcionan una confirmación inequívoca de la identidad del residuo y pueden también confirmar la cantidad presente. Los métodos de confirmación son los más definitivos y con frecuencia están fundamentados en combinaciones de técnicas de cromatografía y espectrometría de masas, tales como la cromatografía de líquidos y la

espectrometría de masas. Estos métodos, cuando se utilizan para confirmar la identidad de residuos, deberían proporcionar información estructural fiable dentro de los límites estadísticos establecidos (CAC/GL 71, 2009).

3.3.1 Cromatografía Liquida acoplada a espectrómet ro de Masa (LC-MS)

Las agencias de salud pública en muchos países se b asan en la detección por espectrometría de masas para la identificación inequívoca de los residuos de agentes antimicrobianos en los productos alimenticios de origen animal destinados al consumo humano (Danaher et al., 2007). La introducción de este método hizo que se convirtiera en una técnica robusta, sensible y selectiva, siendo muy difundida para el análisis cuantitativo y cualitativo. Así mismo esta técnica ha dado un fuerte impulso al desarrollo de nuevos y mejores métodos para determinar y confirmar la presencia de residuos de medicamentos veterinarios en matrices alimentarias como: huevo, leche, pescados y carne (Aerts et al. 1995, Thevis, 2003).

En los últimos años, los avance técnicos de la cromatografía de líquido acoplada a la espectrometría de masa han contribuido a su elección como método oficial de confirmación en el campo de análisis. La Cromatografía Líquida acoplada a Espectrómetro de Masa (LC-MS) puede reducir sustancialmente el tiempo de análisis.
La cromatografía líquida de masas (LC- MS) se ha convertido en el método de elección para la determinación de medicamentos veterinarios que son bastante polares, no volátil, y generalmente sensibles al calor y luz (Danaher et al., 2007).

El uso de detectores para elementos específicos, longitudes de onda de detección o detectores selectivos de masas que son más específicos a un compuesto o estructura particular, junto con la separación cromatográfica, mejoran la selectividad de los métodos cuantitativos para el análisis de los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos (CAC/GL 71, 2009).

Dado que la técnica de Cromatografía de Gases acoplada a detector de masas (GC-MS) requiere de pre tratamiento de la muestra y derivatización del

analito, la LC-MS es una alternativa que requiere menos complejidad para la determinación de ciertos medicamentos como las sulfonamidas. Los primeros trabajos que utilizaron métodos LC-MS para analizar promotores de crecimiento emplearon fuentes de ionización por termopulverización (TSP). Posteriormente y siguiendo la evolución de las técnicas de ionización en espectrometría de masas acoplada a la cromatografía líquida, la TSP fue desplazada por las técnicas de ionización a presión atmosférica (API), que incluye la electronebulización o electrospray (ESI) y la ionización química a presión atmosférica (APCI); sin embargo, ESI sigue siendo la fuente de iones más utilizada para el análisis de antibióticos en los alimentos, debido a la alta polaridad que presentan estas sustancias (Toldrá , *et al*. 2006).

3.3.2 Cromatografía de Gas acoplada a espectrómetro de masa (GC-MS)

Es una técnica analítica separativa ampliamente utilizada para la separación de compuestos volátiles e isotopos atómicos, dependiendo de sus puntos de ebullición. Esta técnica ha sido la más empleada por exactitud, sensibilidad y reproducibilidad, dado que permite la separación e identificación de mezclas complejas. Luego de su separación las moléculas del analito son bombardeadas por electrones rompiendo los enlaces (en ocasiones no necesariamente), generando fragmentos moleculares cargados, los cuales son propios de la naturaleza de cada compuesto (Santos y Galcerán, 2002).

Dado que este proceso requiere volatilizar el analito, la técnica GC-MS no es muy apropiada para analizar residuos de medicamentos, debido a que en su gran mayoría poseen altos pesos moleculares, pero si fueran sustancias volátiles GC-MS seria la técnica más adecuada. Otro factor que incide en la aplicación de este método es la inestabilidad térmica de los analitos y la falta de volatilidad de muchos antibióticos que hacen que la técnica GC-MS sea de difícil aplicación (Santos y Galcerán, 2002).

Además, la cromatografía de gases (GC) es una técnica muy sensible y específica, pero la aplicación rutinaria de este método no es fácil para un gran número de muestras, debido a la purificación y múltiples pasos requeridos para la derivatización. Por esta razón es la técnica complementaria más adecuada debido a su amplia aplicabilidad para la determinación de compuestos polares y no volátiles (Santos y Galcerán, 2002).

III. CONCLUSIONES

- Es necesario establecer LMR para las especies oriundas del Perú como la Alpaca (*Vicugna pacos*) y, el Cuy (*Cavia porcellus*), entre otras especies que son consumidas por el mercado interno e incluso son exportadas.

- Es necesario contar con métodos de screening que faciliten el control de productos químicos y medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal.

- Los métodos más usados en los Programas de Monitor eo por los laboratorios Oficiales son los cromatográficos, debido a su alta sensibilidad y especificidad.

- El monitoreo oficial de residuos de fármacos veterinarios en los alimentos de origen pecuario realizado por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria permitirá determinar las especies más expuestas a ciertos contaminantes, estableciendo medidas de control en el uso de los mismos acordes a las autoridades regulatorias.

- Dada la creciente demanda de proteína de origen animal y los métodos actuales de diagnóstico de residuos de fármacos veterinarios, es necesario hacer una continua vigilancia del expendio y consumo de los fármacos prohibidos para evitar afecte la salud del consumidor.

- Tomar en cuenta el nivel de degradabilidad de los fármacos en el medio ambiente, ya que podría propiciar el reciclaje del mismo y contaminar el alimento y agua, como en el caso de las Sulfonamidas.

- Restringir el registro de fármacos prohibidos por las autoridades competentes, debido a que se ha encontrado fármacos que han sido registrados pese a su condición.

- Brindar asesoramiento y charlas informativas a la comunidad involucrada sobre el uso responsable de los fármacos veterinarios y la importancia del cumplimiento de los periodos de retiro.

- Actualizar los datos de los medicamentos registrados, para facilitar a la comunidad de usuarios la disposición de medicamentos registrados que existen el mercado peruano.

IV. BIBLIOGRAFIA

1. Adams, 2001. Farmacología y terapéutica veterinaria. 2 ed. España: Acribia. p 851-901.

2. Aerts M., Hogenboom A., Brinkman U. 1995. Analytical strategies for the screening of veterinary drugs and their residues in edible products. J. Chromatographic. 667, 1-20.

3. Brunton Laurence L. 2012. Las Bases farmacológicas de la terapéutica. 12va ed. México: Mac Graw Hill. p. 1451-1488,

4. Comisión del Codex Alimentarius. ALINORM 06/29/31. 2006. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Informe de la décima sexta reunión del comité del CODEX sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos.

5. Comisión del Codex Alimentarius. CAC/ GL 71. 2009. Directrices para el diseño y la implementación de programas nacionales reglamentarios de aseguramiento de inocuidad alimentaria relacionados con el uso de medicamentos veterinarios en los animales destinados a la producción de alimentos.

6. Comisión del Codex Alimentarius CAC/LMR 2. 2011. Límites Máximos de Residuos para Medicamentos Veterinarios en los Alimentos.

7. Comisión del Codex Alimentarius. CAC/ LMR 2. 2012. Límites Máximos de Residuos para Medicamentos Veterinarios en los Alimentos. 35a Sesión de la Comisión del Codex Alimentarius.

8. Servicio de consultas y trámites online- Pecuari o. Sistema Integrado de Gestión de Inocuidad Alimentaria-Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SIGIA-SENASA). Disponible en: http://200.60.104.77/SIGIAWeb/ip_productofarmaco.html (Noviembre-2012).

9. Carman R., Tassell V. y Wilkins, T. D. 1993. The normal intestinal microflora: ecology, variability and stability. Vet. Human Toxicol. 35, 11-14.

10. Danaher Martin. 2007. Review of methodology for the determination of benzimidazole residues in biological matrices. Journal of Chromatography B, 845: 1-37.

11. Comisión de la Comunidad Andina. CCA-DECISIÓN 4 83. 2000. Normas para el registro, control, comercialización y uso de productos veterinarios.

12. De Wasch K., Okerman L., Croubels S., De Brabander H., Van Hoof J., y De Backer P. 2001. Detection of residues of tetracycline antibiotics in pork and chicken meat: Correlation between results of screening and confirmatory tests. Analyst, 123, 2737–2741.

13. Decreto Nº 015-98-AG. 1998. Reglamento de Registro y Control de calidad de Alimentos Balanceados para Animales.

14. Decreto Legislativo Nª 1062. 2008. Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Inocuidad de los Alimentos.

15. Decreto Supremo Nª 034-2008-AG. 2008. Reglamento del Decreto Legislativo 1062. Ley de Inocuidad de los Alimentos.

16. Decreto Supremo Nª 004-2011- AG. 2001. Apruebael Reglamento de Inocuidad Alimentaria.

17. DIRECTIVA 96/23/CE DEL CONSEJO DE LA COMUNIDAD EUROPEA. 1996 Relativa las medidas de control aplicables respecto a determinadas sustancias y sus residuos en los animales vivos y sus productos por la que se derogan las Directivas 85/358/CEE y las Decisiones 89/187/CEE y 91/664/CEE.

Disponible en: http://europa.eu/legislation_summaries/other/l21152_es.htm (Noviembre- 2012).

18. DIRECTIVA 2002/657/CE DEL CONSEJO DE LA COMUNIDAD EUROPEA. 2002. Por la que se aplica la Directiva 96/23/CE de Consejo en cuanto al funcionamiento de los métodos analíticos y la interpretación de los resultados.

19. Donoghe D. Antibiotic Residues in Poultry Tissues and Eggs: Human Health Concerns. 2003. Poultry Science 82: 618-621.

20. Draisci, R., Quadri, F. D., Achene, L., Volpe, G., Palleschiand, L., & Palleschi, G. 2001. A new electrochemical enzyme-linked immunosorbent assay for the screening of macrolide antibiotic residues in bovine meat. Analyst, 126, 1942–1946.

21. Elliott, C. T., Baxter, G. A., Hewitt, S. A., Arts, C. J.M., Van Baak, M., Hellenas, K. E. 1998. Use of biosensors for rapid drug residue analysis without sample de conjugation or clean up: A possible way forward. Analyst, 123, 2469–2473.

22. EUROPEAN COMMISSION (CE). 2003. NOTICE TO APPLICANTS AND NOTE FOR GUIDANCE. Establishment of maximum residue limits (MRLs) for residues of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. Vol. N° 8.

23. FAO-OMS. 1995. Aplicación del Análisis de riesgos a cuestiones de Normas Alimentarias. Informe de la Cónsula Mixta FAO/OMS de Expertos.

24. FAO. 2005. Políticas de Seguridad Alimentaria en los Países de la Comunidad Andina.

25. FAO-OMS. 2006. Updating the Principles and Methodof Risk Assement: MRLs for Pesticides and Veterinary Drugs.

26. FAO-OMS. 2007. Análisis de riesgos relativos a la inocuidad de los alimentos. Guía para las autoridades nacionales de inocuidad de los alimentos. Estudio FAO-Alimentación y nutrición 87.

27. FAO- OMS. 2009. Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemical in food. Environmental Health Criteria 240. Word Health Organization.

28. Fodey T., Murilla G., Cannavan A., Elliott C. 2007. Characterisation of antibodies to chloramphenicol, produced in different species by enzyme-linked immunosorbent assay and biosensor technologies. Analytica Chimica Acta 592: 51–
57.

29. Gaudin, V., Cadieu, N., & Maris, P. 2003. Inter-laboratory studies for the evaluation of ELISA kits for the detection of chloramphenicol residues in milk and muscle. Food and Agricultural Immunology, 15, 143–157.

30. Gorbach S. 1993. Perturbation of intestinal microflora. Vet. Human Toxicol.
35. Pág. 15-23.

31. Huet, A. C., Mortier, L., Daeseleire, E., Fodey, T., Elliott, C., Delahaut, P. 2005. Development of an ELISA screening test for nitroimidazoles in egg and chicken muscle. Analytica Chimica Acta, 534, 157–162.

32. IPCS. 1987. International Programme on Chemical Safety in cooperation with the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Environmental Health Criteria 70, Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

33. Jin Y., Jang J., Han, C., Lee M. 2005. Development of ELISA and immunochromatographic assay for the detection of gentamicin. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 7639–7643.

34. Join FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2006. Residue evaluation of certain veterinary drugs. 66Th Meting.

35. Kneebone J., Tsang P., Townson D. 2010. Short communication: Rapid antibiotic screening tests detect antibiotic residues in powdered milk products. Journal of Dairy Science. 93(9):3961-3964.

36. Lozano M. y. Arias M. 2008. Residuos de fármaco s en alimentos de origen animal: panorama actual en Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 21:121-135

37. MacNeil J. 2005. The Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization Expert Committee on Food Additives and Its Role in the Evaluation of the Safety of Veterinary Drug Residues in Foods. The AAPS J; 7:E274-E280.

38. Márquez D. 2008. Residuos químicos en alimentos de origen animal: problemas y desafíos para la inocuidad alimentaria en Colombia. Rev. Ciencia y Tecnología Agropecuaria 9(1), 124-135.

39. McCracken, R. J., Spence, D. E. and Kennedy, D. G. 2000. Comparison of extraction techniques for the recovery of veterinary drug residues from animal tissues. Food Addit. Contam. 17: 907-914.

40. Miller, RW, Azzari, AS & Gardiner, DT 1995. Heavy metals in crops as affected by soil types and sewage sludge rates. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 26: 5-6

41. Myllyniemi A. 2004. Development of microbiological methods for detection and identification of antimicrobial residues in meat. National Veterinary and Food Research Institute (EELA).

42. Programa Andino para Garantizar la Seguridad y Soberanía Alimentaria y Nutricional - SSAN (Decisión 742). Disponible en : http://www.comunidadandina.org/Seccion.aspx?id=95&tipo=TE (Noviembre-2012)

43. Proyecto de Cooperación Técnica. Estrategias e instrumentos para mejorar la seguridad alimentaria en los países de la Comunidad Andina. TCP-RLA-2909. 2002.

44. REGLAMENTO (CEE) N° 2377/90. 1990. Por el que s e establece un procedimiento comunitario de fijación de los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal.

45. REGLAMENTO (CE) No 466/2001. 2001. de la Comisión de la Comunidad Europea. Por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios

46. Samarajeewa U., Wei C., Huang, T. and Marshall, M. R. 1991. Application of immunoassay in the food industry. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 29, 403–434.

47. Santos FJ y Galcerán MT. 2002. The application of gas chromatography to environmental analysis. Trends Anal Chem. 21:672-85.

48. Solís B. 2006. Tesina: Importancia en la salud pública de los residuos de antimicrobianos en productos y subproductos animal de consume humano.

49. Stubbings G. 2005. A multi-residue cation- exchange clean up procedure for basic drugs in produce of animal origin. Analytica Chimica Acta, 547, 262–268.

50. Sullivan A, Edlund, C. and Nord, C. E. 2001. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. Lancet Infect. Dis.1, 101-114.

51. Sumano López H. 2006. Farmacología Veterinaria. 3ra ed. Mc Graw-Hill Interamericana. p 147-235.

52. Tanaka, H., H., Takino, M., Sugita-Konishi, Y., Tanaka, T. 2006. Development of a liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometric method for the simultaneous determination of trichothecenes, zearalenone and aflatoxins in foodstuffs. Rapid Commun. Mass Spectrom. 20 (9), pp. 1422-1428.

53. Thevis, M., Opfermann, G., & Scha¨nzer, W. 2003. Liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometric screening and confirmation methods for b2- agonists in human or equine urine. Journal of Mass Spectrometry, 38, 1197–1206.

54. Thompson M. 2010. Inmnoanalysis – Part 2: Basic Principles of ELISA. AMC TECHNICAL BRIEFS. AMCTB No 45.

55. Toldrá F., Reig, M. 2006. Methods for rapid det ection of chemical and veterinary drug residues in animal foods. Trends in Food Science & Technology xx: 1-8.

56. Trolldenier Hans. 1980. Antibióticos en medicina veterinaria. Editorial Acribia. España. p130-133.

57. Vázquez L., Bermúdez M., Languré A., Higuera, I ., Díaz M. and Flores E. 1990. Antibiotic residues and drug resistant bacteria in beef and chicken tissues. J. Food. Sci. 55, 632-634, 657.

58. Verdon, E., Couedor, P., Roudaut, B., Sanders, P. 2005. Multiresidue method for simultaneous determination of ten quinolone antibacterial residues in multimatrix/multispecies animal tissues by liquid chromatography with fluorescence detection: Single laboratory validation study. Journal of AOAC International, 88, 1179–1192.