

201, 48



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

## RESIDUOS DE HORMONAS Y ANTIBIOTICOS EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

### TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

ANA ELENA GARCIA INARRITU

MEXICO, D. F..



1987

EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I n d i c e

	Página
1. Introducción.....	1
2. Antibióticos.....	3
2.1 Uso terapéutico en animales.....	6
2.1.1 Vías de administración de anti- bióticos y forma medicamentosa.....	8
2.1.2 Consecuencias del uso terapéutico.....	9
2.2 Uso terapéutico en plantas.....	18
2.3 Conservación de alimentos.....	22
2.3.1 Antibióticos presentes naturalmente en alimentos de origen animal.....	23
2.3.2 Preservación de carnes de dife- rente origen.....	24
2.3.3 Antibióticos adicionados a ali- mentos vegetales.....	36
2.3.4 Preservación de alimentos enlatados.....	36
2.4 Aspectos toxicológicos de residuos de antibióticos en alimentos.....	38
2.4.1. Uso veterinario.....	38
2.5 Métodos de análisis de residuos de an- tibióticos en alimentos.....	44
2.5.1 Pruebas de difusión.....	45
2.5.2 Pruebas turbidimétricas.....	47
2.5.3 Pruebas de dilución en serie.....	47
2.6 Resistencia de bacterias a los antibió- ticos presentes en alimentos.....	49
2.6.1 Resistencia natural.....	49
2.6.2 Resistencia adquirida.....	50
2.7 Aspectos legislativos.....	53

	Página
2.7.1 Gufas internacionales, FAO/OMS.....	53
2.7.2 Normas de la Food and Drug Administration (FDA).....	55
2.7.3 Normas mexicanas.....	62
3. Hormonas.....	64
3.1 El uso de hormonas como agentes anabólicos..	66
3.2 Efectividad y ventajas del empleo de las hormonas en los animales.....	70
3.3 Hormonas empleadas.....	73
3.4 Residuos de hormonas.....	84
3.5 Aspectos toxicológicos de residuos de hormonas.....	90
3.5.1 Dietilestilbestrol (DES).....	95
3.5.2 Zeranol.....	99
3.5.3 Acetato de trembolona (TBA).....	100
3.5.4 Presencia de estrógenos en niños.....	101
3.6 Métodos de análisis de residuos de hor- monas en alimentos.....	102
3.6.1 Método histológico.....	102
3.6.2 Métodos biológicos.....	103
3.6.3 Métodos físico-químicos.....	103
3.6.4 Método radioinmunológico (RIA).....	104
3.7 Aspectos legislativos. Normas.....	107
3.7.1 Gufas internacionales, FAO/OMS.....	107
3.7.2 Normas en otros países.....	107
3.7.3 Normas mexicanas.....	110
4. Conclusiones.....	112
4.1 Antibióticos.....	112
4.2 Hormonas.....	114

	<b>Página</b>
<b>5. Recomendaciones.....</b>	<b>116</b>
<b>5.1 Antibióticos.....</b>	<b>116</b>
<b>5.2 Hormonas.....</b>	<b>118</b>
<b>6. Referencias bibliográficas.....</b>	<b>121</b>

## 1. Introducción

Ha sido necesario buscar diferentes procedimientos y compuestos para incrementar la disponibilidad y producción de alimentos para consumo humano.

Dadas las necesidades de nuestro país, se ha requerido incrementar la proporción de crecimiento en el orden de 10 - 15% en los animales, así como la eficiencia de la conversión de alimento. Esto también se traduce en mayores ganancias económicas debido a la reducción de la cantidad de energía requerida por unidad de peso de proteína producida (FAO/WHO, 1981).

En la producción animal se emplean medicamentos y aditivos alimenticios; utilizándose los primeros con fines terapéuticos, de diagnóstico, profilaxis y para el control de gérmenes patógenos. Por otro lado, están los que se administran a animales con la intención de incrementar la producción. Adicionalmente, pueden emplearse para retardar la descomposición y extender la estabilidad durante el almacenamiento de los productos alimenticios (Desrosier, 1976; Ayres y Kirshman, 1981; Kaemmerer, 1981).

Los antibióticos son sustancias producidas por microorganismos o síntesis química total o parcial, los cuales inhiben el crecimiento de microorganismos en bajas concentraciones (Hugo, et.al., 1979).

Las hormonas son compuestos químicos, producidos en ciertas células, por lo general en glándulas sin conducto excretor, las cuales son vertidas directamente en la corriente sanguínea y producen un efecto fisiológico sobre otras células. Las hormonas actúan como mensajeros químicos que regulan y coordinan complicadas reacciones químicas en el organismo viviente (Kirk, et.al., 1979).

Con el acontecimiento de los antibióticos y su gran uso en la agricultura y ganadería, se han creado problemas potenciales, al mismo tiempo que se han resuelto otros.

Por lo anteriormente expuesto, resulta de interés reunir el material que represente el estado actual del uso de antibióticos y hormonas en diferentes especies animales de consumo y su posible repercusión en la salud humana, realizando una revisión de la literatura pertinente para valorar la presencia de estos compuestos como residuos de alimentos.

Hoy en día, lo que más preocupa al hombre es la exposición a pequeñas cantidades de residuos de antibióticos y hormonas en los alimentos que se emplean para consumo humano, por lo que es conveniente analizar su aspecto toxicológico que podría ser la causa de hipersensibilidad y resistencia microbiana (Goldberg, 1964; Fernícola y Jauge, 1984; Valle, 1986).

## 2. Antibióticos

En el transcurso de la historia, se han propuesto varias definiciones de antibióticos, entre éstas se destacan las siguientes:

"Cualquier sustancia química producida por microorganismos que, en concentraciones muy pequeñas, puede inhibir la proliferación de éstos." (OMS, 1976).

"Los compuestos producidos exclusivamente por microorganismos que inhiben el crecimiento de otros o incluso los destruyen." Otra definición es: "Antibiótico es toda sustancia obtenida de un organismo y que es capaz de inhibir, a bajas concentraciones, los procesos vitales de microorganismos." (Mayoral, 1946; Enciclopedia Barsa, 1962; Mantén, 1981).

Por otra parte, se han obtenido sustancias con propiedades antibióticas de plantas y organismos superiores. Los antibióticos que son producto de organismos vivientes no son tóxicos para ellos mismos (Desrosier, 1976; Glasby, 1978; Ayres, et.al., 1980).

Los antibióticos, además de ser sustancias producidas por microorganismos, se pueden sintetizar químicamente, ya sea total o parcialmente.

Los antibióticos interfieren con cuatro de las tantas actividades que presenta la célula del microorganismo,



dentro de las más afectadas son: (Wilson, 1964; Gottlieb y Shaw, 1967; Weisblum y Davis, 1968; Pestka, 1971; Symposium, 1974; Hugo y Russell, 1977)

- \* Síntesis de la pared celular bacteriana,
- \* Funciones de la membrana,
- \* Biosíntesis de proteínas,
- \* Biosíntesis de ácidos nucleicos e
- \* Interrupción del sistema enzimático.

Los antibióticos son compuestos que, además de emplearse en el tratamiento de enfermedades infecciosas en la medicina humana y veterinaria, se han venido empleando para otros usos como: el incremento de la eficiencia alimenticia en los animales, la preservación de alimentos y la protección de las cosechas (Anónimo, 1953; Goldberg, 1964; Maynard, et.al., 1980; Church y Pond, 1983).

En algunas dietas los antibióticos tienen un efecto de "ahorro de nutrimentos", ya sea reduciendo la destrucción por bacterias de vitaminas o aminoácidos, favoreciendo a las bacterias que sintetizan nutrimentos, o bien reduciendo la competencia de la microflora del animal huésped (Church y Pond, 1974; 1982).

Al adicionar antibióticos a la dieta, los animales crecen adecuadamente con niveles bajos de proteína o aminoácidos y de ciertas vitaminas del Complejo B. Además previenen el engrosamiento de la pared intestinal y favorecen así, aparentemente, la mejor absorción

de nutrimentos (Catron, et.al., 1953; Goldberg, 1964; Halde, et.al., 1975; Maynard, et.al., 1980; Church y Pond, 1982).

Los cerdos recién destetados y alimentados con niveles elevados de antibióticos sufren modificaciones en la flora intestinal de tal manera que se reduce el número de organismos que compiten con el huésped por la Vitamina B<sub>12</sub>, resultando en un requerimiento menor de esta vitamina. Lo mismo se observó para los requerimientos de tiamina, riboflavina y ácido pantoténico cuando se empleaba aureomicina (Catron, et.al., 1953; Goldberg, 1964; Church, 1974).

Además se ha observado la inhibición de la producción de toxinas bacterianas; tales como el amoníaco que producen ciertos microorganismos o la producción bacteriana de ureasa (Maynard, et.al., 1980; Church y Pond, 1982).

A continuación, en el cuadro 2.1, se muestra la clasificación general de los antibióticos según su estructura química (Rehm, 1967; Garrod, 1973; Geddes y Williams, 1973; Anónimo, 1974; William, 1974; Ayliffe, 1975; O'Callaghan, 1975; Wise, 1975).

Cuadro 2.1 Clasificación de los antibióticos según su estructura química	
Grupo	Ejemplo
1 Penicilinas, Cefalosporinas	Ampicilinas, Penicilina G
2 Oligosacáridos	Neomicina, Estreptomina

Cuadro 2.1 (Continuación)	
Grupo	Ejemplo
3 Cloranfenicol	Cloromicetina
4 Tetraciclinas	Clorotetraciclinas, Oxitetraciclinas
5 Antibióticos macrólidos	Eritromicina, Tilosina
6 Antibióticos poliénicos	Nistatina, Pimaricin
7 Antibióticos siderocromos	Griseina
8 Antibióticos polipeptídicos	Bacitracina, Nisina, Penicilina, Polimixin
9 Griseofulvina	Griseofulvina
10 Novobiocina	Novobiocina
11 Sulfonamidas	Sulfonamida
12 Nitrofuranos	Furaspor

### 2.1 Uso terapéutico en animales

La utilización de los antibióticos en el tratamiento de enfermedades infecciosas en animales es muy amplia debido a la efectividad que se obtiene con ellos.

Parece que los suplementos alimenticios con antibióticos reducen la incidencia de enfermedades del ganado, la enteritis en los cerdos, diarrea en terneras y enfermedades crónicas respiratorias en gallinas; el empleo de niveles elevados de antibióticos por períodos de tiempo cortos en aves que padecen infeccio-

nes crónicas estimulan la recuperación y llevan nuevamente a las aves a un crecimiento eficiente y a una producción de huevo adecuada (Fincham y Voelker, 1953; Foreman, et.al., 1961).

Los antibióticos reducen la severidad y frecuencia pero no previenen todos los tipos de diarreas y no debe esperarse que reemplacen a las prácticas sanitarias, manejo y nutrición adecuados (Porter, 1952; Anónimo, 1953; Goldberg, 1964; Church y Pond, 1974; 1982; Maynard, et. al., 1980).

En el ganado lechero, por ejemplo, la enfermedad más común es la mastitis, la cual se controla con el tratamiento local de la ubre con antibióticos (Garrod, 1965; Jepsen, 1966).

La penicilina es el antibiótico de primera elección para el tratamiento de esta enfermedad, éste es introducido en la glándula mamaria y la mayor parte se elimina en la leche obtenida en los dos ordeños siguientes al tratamiento (Harold, et.al., 1946; Jepsen y Overby, 1951; Farber, 1959; Garrod, 1965; Jepsen, 1966; Liener, 1974; Goldberg, 1964).

Tras un tratamiento local de la mama, la leche de los primeros ordeños contiene cantidades relativamente elevadas de antibióticos, la cantidad total recuperada puede oscilar entre el 8% y el 80%; si bien, por término medio, la proporción que reaparece en la leche es aproximadamente el 50% de la dosis total de penicilina,

lo cual es potencialmente peligroso para el hombre (Firman, et.al., 1959; World Health Organization, 1963; 1970; Barber, 1966; John, 1966; Kaplan, et.al., 1966; Meyer y Herxheimer, 1968; Charles, 1971; Liener, 1974).

Se ha pensado que para el nivel terapéutico deben emplearse niveles altos de antibióticos, pudiéndose emplear más de 2 000 ppm, siendo variable de especie a especie animal y de país a país (Goldberg, 1964).

#### 2.1.1 Vías de administración de antibióticos y formas medicamentosas

Las vías de administración de los antibióticos que se utilizan para la terapia y la estimulación del crecimiento en los animales son: por vía oral, parenteral, ya sea intravenosa o intramuscular, y cutánea.

Las formas medicamentosas comúnmente empleadas son: soluciones acuosas inyectables, suspensiones orales y en forma de pomadas.

Las vías de administración, así como las formas medicamentosas que se usen dependen del objetivo terapéutico.

Por vía oral se administra cuando se quiere favorecer la estimulación en el crecimiento, por vía intramuscular o intravenosa si existe una enfermedad en el animal y se prefiere una acción más rápida. La vía cutánea se aplica para padecimientos localizados en la piel (Hammenson, 1980).

### 2.1.2 Consecuencias del uso terapéutico

Los antibióticos administrados a las vacas lecheras se encuentran luego en la leche, donde pueden alcanzar una concentración suficiente para impedir su utilización normal especialmente en quesería, mantequería, fabricación de yogurt, etc. En México, se han encontrado residuos de antibióticos en leche en cantidades menores de 1 ppm (Weinstein, 1954; Jackson, 1973; Velázquez, et.al., 1980; Cruz, et.al., 1986).

Un ejemplo de esto es la inhibición de las bacterias lácticas que intervienen en la fabricación de estos productos; los estreptococos, sobre todo, son muy sensibles a los antibióticos. Cuando son inhibidos se retrasa la acidificación; además las bacterias Gram negativas más resistentes, especialmente las del grupo Escherichia coli pueden desarrollarse y producir alteraciones muy graves (Kastli, 1948; Hunter, 1949; Whitehead y Lane, 1956; Shahani y Harper, 1958; Farber, 1966; Kaplan, et. al., 1966; 1968; Marth, 1966; FAO/OMS, 1969; Mol, 1975; Charles, 1976; Ayres, 1981).

La facilidad de los antibióticos para permanecer en la leche se debe a que éstos se encuentran unidos a la fase acuosa de ésta cuando se desnata una leche entera que contiene un antibiótico, de tal manera que la mayor concentración del medicamento aparece en la leche descremada y la menor en la crema (Jepsen y Overby, 1951; Jepsen, 1966).

La presencia de residuos de antibióticos en la leche es indeseable, no sólo porque pueden ocurrir interferencias con la elaboración de productos lácteos tales como queso y yogurt, como ya se ha mencionado anteriormente, sino porque pueden originarse reacciones adversas en los individuos que los ingieren. Es por esto que en las pruebas de plataforma se recomienda incluir la detección de antibióticos (Freedman y Mearu, 1954; Meyler y Herxheiner, 1967; Lueck, 1974).

La presencia de residuos de antibióticos en leche y productos lácteos es debido a que los productores no suspenden la obtención de la leche de la vaca por lo menos los tres días siguientes después de una terapia veterinaria de la mastitis u otras enfermedades del ganado lechero. El consumo de alimento suplementado con antibióticos puede dar origen a residuos en leche líquida o en polvo, mantequilla y queso. Los antibióticos son bastante estables y permanecen en la leche, aún después de procesos tales como pasteurización y desecación (Marth y Ellickson, 1959; Barber, 1966; Jepsen, 1966; Kaplan, 1966; Marth, 1966; Mol, 1975; Ayres, 1981).

En el cuadro 2.2, se indican los períodos de eliminación de varios antibióticos (Overby, 1965).

Cuadro 2.2 Períodos de eliminación de varios antibióticos por la leche	
Antibiótico suministrado	Días posteriores a la administración en los que pueden encontrarse restos de antibióticos en leche
Administrado por vía intramamaria:	
Penicilina (soluciones acuosas)	2
Penicilina (pomada)	4
Penicilina (acción prolongada)	6
Clorotetraciclina	6
Oxitetraciclina	4
Cloranfenicol	3
Estreptomicina	4
Administrado por vía intramuscular:	
Penicilina	1

A partir de 1950, comenzó a reportarse que los antibióticos pueden ejercer un efecto estimulante en el crecimiento de los animales. Esto ha dado origen a la adición de este tipo de compuestos a los alimentos de cerdos, aves, borregos y ganado vacuno.

Tomando como patrón el empleo de los antibióticos en la terapia de diversas enfermedades en animales y en humanos, se han realizado estudios en los que se han empleado estos compuestos como estimulantes del crecimiento animal (Catron, et.al., 1953).



Basándose en el hecho de que los antibióticos bloquean los sistemas enzimáticos en los microorganismos, se han administrado a los piensos, de tal manera que al llegar a la flora intestinal de los animales causan una alteración en la estructura del tejido del tracto gastrointestinal o en el pH de los fluidos de éste y como resultado se obtiene una mayor disponibilidad así como una mejor y más rápida absorción de diversos nutrimentos, tales como calcio o glucosa, favoreciéndose de esta manera un cambio en el metabolismo del animal, lo que estimula el crecimiento de éste (Catron, et.al., 1953).

De esta forma, se puede decir que se presenta un "ahorro de nutrimentos", pues se logra que el animal crezca cuando, por ejemplo, el consumo de proteína es limitado (Church, 1974).

Los animales débiles o con dietas inadecuadas responden mejor a los antibióticos que los animales normales criados bajo manejos adecuados y con una dieta completa (Goldberg, 1964).

Un punto importante es que los antibióticos son efectivos sólo en las etapas tempranas de crecimiento y cuando padecen de estrés.

En el cuadro 2.3 se pueden observar las edades en las que se recomienda el empleo de los antibióticos en diferentes animales.

Cuadro 2.3 Edades de animales en que se recomienda el empleo de antibióticos	
Animal	Edad
Aves	8-10 semanas
Cerdos	4-6 semanas
Terneras	3 meses
Ganado vacuno	18 meses
Borregos	2 meses

Como podrá observarse en el cuadro 2.4, es en la etapa de crecimiento cuando deben utilizarse los antibióticos; ya que de emplearse en animales mayores, el efecto disminuiría y la ventaja inicial se perdería gradualmente hasta que, cerca de la madurez, habría muy poca diferencia en los pesos. Es por esto que en animales adultos el uso de antibióticos será sólo terapéutico (Porter, 1954; WHO, 1963; Church y Pond, 1974; 1982).

Cuadro 2.4 Efecto de los antibióticos en las primeras etapas de crecimiento			
Peso inicial kg	No. de experi- mentos	Crecimiento %	Respuesta de la utilización de alimento %
11,4	13	19,6	4,1
11,4-13,6	37	15,6	0,9
13,7-15,9	41	15,0	2,6
16,0-18,2	34	14,3	7,8
18,3-22,7	44	10,5	4,2
22,7	46	8,7	4,1

El cuadro 2.5 muestra los antibióticos empleados en las primeras etapas del crecimiento animal (Ayres, 1981; Blair, 1982; Church y Pond, 1982).

**Cuadro 2.5 Antibióticos y dosis empleados en las primeras etapas del crecimiento animal**

Antibiótico	Animal	Dosis g/ton de alimento	mg/animal/día
Bacitracina	Aves	4-50	
	Aves ponedoras	10-50	
	Cerdos	10-50	
	Ganado vacuno		35
Disacilato metilen	Aves	4-50	
Bacitracina	Gallinas ponedoras	10-50	
Bacitracina zinc	Aves	4-50	
	Gallinas ponedoras	10-100	
	Cerdo	10-100	
Bambermicina	Ganado vacuno		35-70
	Aves	1-2 mg/ton	
	Cerdos	2-4	
	Pollos	1-2	
Carbadox	Cerdos	10-50	10-25 mg/ton
Clorotetraciclina (Aureomicina)	Aves	10-100	
	Terneras		25-70
	Ganado vacuno		70

Cuadro 2.5 (Continuación)

Antibiótico	Animal	Dosis g/ton de alimento	mg/animal/día
	Vacas lecheras		70
	Borregos	20-50	
	Caballos		85
	Cerdos	10-50	
Eritromicina	Pollos en crecimiento	4,6-18,5	
	Gallinas ponedoras	18,5	
	Pavos en crecimiento	9,25-18,5	
	Cerdos destetados	10-70	
	Cerdos en crecimiento	10	
	Ganado		37
Furazolidona	Aves	7,5-10	
	Cerdos pequeños	100	
	Cerdo (Hembra)	150	
Ipronidazol	Aves (Pavos)		0,006254
Lincomicina	Aves	1-2	
	Pollos	2-4	
	Cerdos	5-11,25	

Cuadro 2.5 (Continuación)

Antibiótico	Animal	Dosis g/ton de alimento	mg/animal/día
Monensina	Ganado	5-30	
Oleandomicina	Gallinas, pavos	1-2	
	Cerdos	5-11,5	
Oxitetraciclina	Pollos y pavos en crecimiento	5-7,5	
	Gallinas ponedoras	10-15	
	Pavos ponedores	10-50	
	Cerdos 10-30 lb	25-50	
	30-200 lb	7,5-10	
	Terneras destetadas (este antibiótico se adiciona a los sustitutos de leche y alimentos iniciadores del crecimiento)		0,5 mg/ lb de peso corporal
	Terneras		25-75
	Ganado	75	
	Ganado vacuno	75	
	Ganado lechero	75	
	Ovejas	10-20	
	Conejos	10	

Cuadro 2.5 (Continuación)

Antibiótico	Animal	Dosis g/ton de alimento	mg/animal/dfa
Penicilina	Gallinas, pavos	2,4-50	
	Cerdos	10-50	
Tilosina	Pollos en crecimiento	4-50	
	Gallinas ponedoras	20-50	
	Cerdos	20-100	
	Cerdos (en alimentos iniciados)	20-40	
	Cerdos (en alimentos para el crecimiento)	10-20	
	Cerdos (alimento final)	10-20	
Virginamicina	Ganado vacuno	8-10	
	Pollos	5-15	
	Cerdos	5-10	

La clorotetraciclina, oxitetraciclina, penicilina y bacitracina son más empleados que otros antibióticos. Los antibióticos adicionados a las dietas de los animales se utilizan en niveles bajos; mientras que, para el tratamiento de enfermedades, los niveles terapéuticos son mayores (Anónimo, 1953; Goldberg, 1964; Maynard, et.al., 1980; Church y Pond, 1982).

El nivel mínimo de antibiótico necesario para causar el efecto de crecimiento es de 20 ppm. Este nivel varía de país a país y en ocasiones se sobrepasan las 50 ppm, considerándose aún como nivel bajo. El nivel profiláctico se considera al que supera las 50 ppm estando en exceso el antibiótico para el efecto del crecimiento.

Un nivel bajo de antibióticos (15-80 mg/día) administrado al animal, tiende a incrementar el consumo de alimentos, mejora el índice de conversión de los piensos y suele incrementar la tasa de crecimiento (Hubbert y Wallace, 1959).

## 2.2 Uso terapéutico en plantas

Las enfermedades de las plantas causadas por bacterias u hongos patógenos son responsables de enormes pérdidas en las cosechas. Con el propósito de disminuir tales pérdidas, se han usado una variedad de medidas de control, tales como: (Ordish, 1952)

- \* Empleo de variedades de plantas resistentes
- \* Ajuste de las condiciones del cultivo para favorecer el crecimiento de las plantas y reprimir el crecimiento del parásito
- \* Empleo de antibacterianos y antifúngicos (Anderson y Gottlieb, 1952; Anónimo, 1953; Klis, et.al., 1959; Garrod, 1965)

Los bactericidas y fungicidas se emplean como una capa protectora aplicada a alguna parte de la superficie de la planta antes de que aparezca la infección.

Otro modo común de aplicación es emplear estos compuestos para atacar la infección antes de que la planta se exponga a ésta. También se aplican los bactericidas o fungicidas a la superficie de la planta después que se han desarrollado los signos, como tratamiento de erradicación. Los principales atributos de un fungicida y/o bactericida adecuado para el control de enfermedades en plantas son: (Brian, 1954)

- \* Su efectividad para prevenir el desarrollo del parásito
- \* Baja toxicidad en la planta huésped
- \* Su bajo precio

A pesar de las ventajas que brindan los bactericidas y fungicidas, se han realizado estudios con antibióticos para controlar las enfermedades en plantas, demostrando las pruebas in vitro que un cierto número de antibióticos son efectivos para combatir muchas bacterias patógenas, siendo la estreptomycinina el antibiótico más prometedor para el control de ciertas enfermedades bacterianas en plantas (Zaumeyer, 1955).

Habrá que tomar en cuenta las siguientes consideraciones al emplear antibióticos en plantas:

- \* La posibilidad de ser más activos,
- \* La posibilidad de controlar enfermedades de las plantas que en el presente no han sido controladas,
- \* La posibilidad de tener una mayor especificidad con los antibióticos que la que se tiene con los bactericidas o fungicidas,



\* Los fungicidas y bactericidas son empleados para el control de las enfermedades en plantas y son tóxicos si se emplean en dosis elevadas, además son nocivos para la planta huésped y el daño en ésta puede ser mayor de lo que puede suponerse (Brian, 1954).

Brian (1954) fue de los primeros que mostró que la gliotoxina podía controlar adecuadamente varias enfermedades en semillas de cereales si se aplicaba como polvo en la semilla antes de la siembra, siendo éste el primer uso reportado del empleo de un antibiótico puro en el control de enfermedades en las plantas.

En esta época se producen antibióticos que están disponibles comercialmente. Estos han sido rigurosamente seleccionados para el control "in vivo" de organismos patógenos en el hombre, así como también se han escogido aquellos que se ajusten a las necesidades específicas de las enfermedades de las plantas (Krassilnikov, 1952).

Los antibióticos menos fitotóxicos son la estreptomycinina y la penicilina mientras que otros antibióticos tales como la glioxina, viridina, patulina, citrimina y ácido mico-fenólico son tóxicos para los mamíferos y para las plantas (Brian, 1954).

Se han aplicado antibióticos a algunos filtrados de cultivo teniendo después de este tratamiento una aceleración de 4 ó 5 días en la germinación de la semilla y, por consiguiente, un rápido crecimiento de la

cosecha, lo cual se refleja en un desarrollo avanzado a lo largo del crecimiento de la cosecha (Krassilnikov, 1952; Brian, 1954).

Algunos antibióticos ofrecen resultados tan buenos como los obtenidos por los mejores fungicidas o bactericidas (Brian, 1954; Zaumeyer, 1955).

Al emplear cloranfenicol, oxitetraciclina y clorotetraciclina, los cuales tienen un mayor efecto tóxico que la estreptomina y neomicina, se produce una inhibición del desarrollo de la raíz y de la formación de la clorofila, en algunos otros brotes de semilla no se produce clorofila o son de un color verde pálido o jaspeados.

La aparición de efectos tóxicos depende mucho del antibiótico empleado y la sensibilidad de las plantas. Por ejemplo, cuando se aplica cloranfenicol al trigo, se suprime un poco la formación de clorofila al estar presente el antibiótico; en cambio, cuando se aplica cloranfenicol, clorotetraciclina, oxitetraciclina y estreptomina en altas concentraciones a brotes de semillas de mostaza, la cual es muy sensible a los antibióticos, se inhibe por completo a la clorofila (Pramer y Wright, 1955).

Uno de los objetivos principales de los antibióticos empleados en plantas es controlar enfermedades producidas por bacterias y hongos, lo cual puede determinarse realizando pruebas "in vitro" en medios adecuados y observando el crecimiento de diferentes hongos y bacterias en presencia de diversos antibióticos con dife-

rentes concentraciones de estos. Después de realizar estas pruebas, se efectúan otras directamente en plantas con alguna enfermedad, observándose posteriormente los resultados y determinando así el mejor antibiótico para el control de dicha enfermedad (Morgan y Goodman, 1955; Newburgh y Cheldelin, 1955).

El empleo de antibióticos en las plantas determina una estimulación en el crecimiento de la planta, de tal manera que la germinación de la semilla se ve acelerada, lo cual se traduce en un rápido crecimiento (Brian, 1954).

No se encuentran residuos de antibióticos en la fruta debido a que el tratamiento se aplica antes del florecimiento y aparición de los frutos. En cambio, los vegetales se rocían hasta el momento de la cosecha, pudiéndose, por tanto, encontrar residuos de estreptomycin u otro antibiótico en niveles detectables en el interior de los tejidos vegetales (Anónimo, 1953; Goldberg, 1964).

### 2.3 Conservación de alimentos

En los últimos años se han empleado antibióticos como conservadores alimenticios. La mayor parte de los antibióticos mejor conocidos se han adicionado a alimentos crudos, especialmente a carnes de diversos orígenes como carnes rojas, pescado, fruta y vegetales en un intento por prolongar su almacenamiento a temperaturas de refrigeración (Garrod, 1965; Liener, 1974; Frazier, 1976).

Una ventaja que se ofrece con su empleo es la prolongación del tiempo de conservación y de almacenamiento de ciertos alimentos frescos o preparados (OMS, 1976).

El empleo de antibióticos de baja toxicidad en la conservación de los alimentos crudos no debe sustituir a una higiene adecuada. Así también se sabe que el efecto de un antibiótico sobre los microorganismos varía con la especie e incluso con la cepa; de aquí que los antibióticos puedan ser efectivos contra algunos organismos o contra parte de la población de un cultivo pero no contra toda ella. Se conocen microorganismos capaces de adaptarse a concentraciones crecientes de antibióticos, de forma que se desarrollan cepas resistentes nuevas (Garrod, 1965; Frazier, 1976; Ayres, 1981).

### 2.3.1 Antibióticos presentes naturalmente en alimentos de origen animal

Los antibióticos se presentan como productos del crecimiento microbiano en alimentos cuya preparación involucra el desarrollo de algún microorganismo; por ejemplo, en el queso se desarrollan diversos hongos que pertenecen a un mismo género, los cuales son una fuente prolífica de dichas sustancias.

El Streptococcus lactis produce nisina, siendo éste el organismo responsable de la primera fermentación y la base de la fabricación del queso. La nisina es un antibiótico polipeptídico de estructura compleja, activo contra organismos Gram positivos. Esta sustancia es muy útil cuando se emplea contra gérmenes del género

clostridio, pero además también actúa contra bacterias como los lactobacilos (Garrod, 1965; Charles, 1970).

La nisina puede encontrarse en queso procesado debiendo considerar la adición para la prevención del deterioro por bacterias esporógenas Gram positivas. Se destruye parcialmente con el calor, reduciéndose a una cantidad muy pequeña en el producto final (Garrod, 1965).

### 2.3.2 Preservación de carnes de diferente origen

La clorotetraciclina (CTC), oxitetraciclina (OTC) y cloranfenicol han demostrado extender la vida de anaquel de la carne roja en comparación con carne no tratada e inhiben el crecimiento de organismos que provocan la descomposición al aplicarse entre 0,5 a 2 ppm. El ablandamiento de los filetes de carne se acelera en 48 horas al almacenarlos en un cuarto a temperatura ambiente seguido de un enfriamiento, este ablandamiento es igual al que se obtiene en 2 semanas en controles postmortem no tratados. Las levaduras que tienden a predominar a medida que avanza el almacenamiento se reducen si se adiciona 10-20 ppm de rimocidin a la CTC (Goldberg, et.al., 1953; Weiser, et.al., 1953; Tarr, et.al., 1954; Weinstein, 1954; Farber, 1959).

La CTC es más efectiva a bajas concentraciones en contra de las Pseudomonas spp que en contra de Proteus spp en res.

No se detectan residuos de antibióticos en carne de res a la que se ha aplicado aureomicina después de 72

horas de almacenamiento, sugiriéndose una acción bacteriostática por parte del antibiótico. Cuando desaparece este último, los organismos comienzan a crecer retrasándose así la descomposición de la carne (Goldberg, et.al., 1953; Weiser, et.al., 1953).

Los antibióticos pueden añadirse a las carnes en varias formas:

- \* Administrándolo en el pienso a dosis altas durante un período de tiempo corto antes del sacrificio
- \* Inyectándolo en la canal o en porciones de la misma introduciendo la clorotetraciclina (aureomicina), solución isotónica en sal, por la arteria carótida, (3 g de antibióticos para 1 000 libras de peso corporal); o sumergiendo trozos o bisteces de carne en soluciones de antibióticos
- \* Aplicándolo a la superficie de la carne o mezclándolo con la carne picada (Broquist, 1956; Goldberg, 1964; Frazier, 1972).

El deterioro profundo de la carne puede ser causado por organismos que residen no en el músculo esquelético (carne), sino en otros tejidos, principalmente en los nodos linfáticos que tienen una función fagocítica en el animal y en la médula ósea. La mayoría de las bacterias en los tejidos profundos se encuentran en los nodos linfáticos. Los nodos linfáticos se proveen de sangre y pueden ser alcanzados fácilmente a través del sistema vascular. El empleo de antibióticos de amplio es-

pectro en cantidades adecuadas puede evitar el crecimiento de bacterias pues no son tóxicos ni proporcionan sabor (Weiser, et.al., 1953).

En el cuadro 2.6, se puede observar que las cuentas bacterianas en carne de res molida se ven disminuidas por la aplicación de diferentes concentraciones de antibióticos (Miller, 1956).

Cuadro 2.6 Preservación de carne de res molida empleando clorotetraciclina (aureomicina), valor medio de las cuentas bacterianas en millares por gramo de carne molida						
Concentración de antibiótico						
Antibiótico	Días de almacenamiento, a 10° C	Concentración de antibiótico				
		2 ppm	1,5 ppm	1,0 ppm	0,5 ppm	Control 0,0 ppm
Aureomicina	0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	3	0,3	0,3	0,5	0,5	100,0
	5	0,94	4,8	10,1	39,0	Pútrido
	7	5,0	10,0	30,0	75,0	"
	9	8,0	30,0	70,0	100,0	"

Quando se emplean tetraciclinas para la preservación de la carne, se detectan niveles bajos de residuos que pueden llegar al consumidor, detectándose así en la carne cruda un nivel inicial de 1-4 ppm. Habiéndose cocinado la carne, pueden detectarse residuos menores a 1 ppm (Jay, et.al., 1957).

Existe otra alternativa para la preservación de la carne roja que consiste en la aplicación de 7 ppm de CTC a la superficie de la carne, seguida de un tratamiento con radiación con 0,1 megarads, dando como resultado una inhibición efectiva del crecimiento microbiano durante el almacenamiento a 1° C por 30 días. Esta inhibición es mayor que en el caso de sólo el empleo de radiación o antibiótico. Los niveles útiles de CTC son de 0,5 a 10 ppm y la dosis de radiación más adecuada es de 200 kilorads; también puede emplearse tetraciclina u oxitetraciclina. El almacenamiento de la carne a 1° C es mejor que a los 4° C independientemente del tratamiento; aunado a los tratamientos debe considerarse el tipo de empaque que se vaya a emplear para impedir la contaminación. Los empaques que muestran una mayor efectividad son la película de sarán, celofán y polietileno (Tarr, et.al., 1954; Weiser, 1954; Jay, et.al., 1957; Phillips, et.al., 1961).

Al emplear antibióticos en aves se obtienen las ventajas siguientes: (Miller, 1956)

- \* Se evitan cambios durante el procesamiento,
- \* Se mantiene el color, olor y sabor del ave fresca recién matada por más tiempo,
- \* El consumidor no nota la presencia del antibiótico,
- \* Es significativo el incremento en la facilidad de venta,
- \* Si se emplean 10 ppm de aureomicina como se recomienda, se tendrán residuos menores a las 7 ppm en la carne del ave,



\* En caso de consumirse cruda la carne y presentarse 7 ppm como residuo, repartidas uniformemente en ésta, se necesitaría comer 145 libras de carne de pollo crudo para que se consumieran 0,5 g de clorotetraciclina (aureomicina), cantidad que corresponde a la dosis profiláctica aplicada en diversos casos médicos.

La adición de 10 ppm de CTC a tanques de enfriamiento dan por resultado un alargamiento a la vida de anaquel de pollos enteros o en trozos y pavos por 3, 14 ó más días, dependiendo de la temperatura de almacenamiento. Al aplicar una mezcla de clorotetraciclina, oxitetraciclina y tetraciclina o una mezcla de bacitracina y neomicina al agua de beber 24 horas antes de la matanza, las canales tienen una vida más larga que los controles que sólo bebieron agua. En las aves tratadas pueden crecer levaduras y hongos, pero con una mezcla de 10 ppm de CTC y de 5-10 ppm de nistatina se previene su desarrollo y la aparición de olores de descomposición en el pollo durante su almacenamiento (Farber, 1959).

Las aves sumergidas en una solución que contiene 10 ppm de antibiótico aproximadamente muestran un efecto bacteriostático con las 2 ppm que se encontrarán como residuo en la carne. Este dato indica que el antibiótico es fácilmente absorbido al interior del ave al ser sumergida en agua que contiene una pequeña cantidad de clorotetraciclina (Tarr, et.al., 1952; Broquist, et. al., 1956; Lerke y Farber, 1957).

A pesar de lo anteriormente expuesto, los responsables de la salud en diversos países observan con recelo ciertos problemas que se presentan al emplear antibióticos en aves porque (Weiser, 1954; Kohler, et.al., 1955; Miller, 1956; Broquist, et.al., 1956; Vaughn, et.al., 1957; Goldberg, 1964; Potter, 1978; Ayres, 1980):

- \* Solamente una porción de la población bacteriana será destruída,
- \* Parte de la flora natural será reemplazada por levaduras u otros organismos, incluyendo patógenos potenciales que anteriormente no competían favorablemente,
- \* El residuo de antibiótico podría sensibilizar a algunos consumidores,
- \* El tratamiento con antibióticos puede ser sustituido por prácticas sanitarias adecuadas y
- \* El costo del procesamiento en las aves se vería incrementado

Después de la aparición de los antibióticos de amplio espectro, aparecieron una serie de reportes indicando su empleo potencial en la preservación del pescado. Al emplear clorotetraciclina, oxitetraciclina y cloranfenicol en 10 a 25 ppm, se inhibe el crecimiento bacteriano en el halibut, salmón y rodaballo, por 10 días a 33° y 37° C.

El deterioro del total del pescado eviscerado se retardó marcadamente mediante hielo que contenía 1 a 4 ppm de clorotetraciclina, o manteniéndolos en agua de mar con 2 ppm a -1° C por 6 días y por 1 minuto de in-

mersión en 50 ó 100 ppm de solución de clorotetraciclina, previamente al congelamiento (Farber, 1954; Tarr, et.al., 1954; Weiser, 1954; Ziegler y Stadelman, 1955; Firman, et.al., 1956; Farber, 1957; Goldberg, 1964).

Se recomienda aplicar los antibióticos por inmersiones o rocío que contengan aproximadamente 5 ppm de antibiótico.

En diversos estudios realizados en el pescado que ha sido tratado con antibióticos se ha observado que después de un cocimiento de éste, no se detectan residuos de estos compuestos en la carne pero sí en la piel en cantidades que no exceden de 1 ppm. Durante el enfriamiento, los residuos de antibióticos disminuyen considerablemente, pero aún así se encuentran de 1 a 5 ppm (Tarr, et.al., 1954; Kohler, et.al., 1955; Goldberg, 1964; Ayres, 1980).

En el cuadro 2.7 se observa el total de microorganismos por gramo de pescado, en diferentes días, empleando clorotetraciclina en el hielo (Miller, 1956).

**Cuadro 2.7 Preservación de salmón con clorotetraciclina (aureomicina)**

Tratamiento del hielo	Total de microorganismos por $10^6$ , por gramo de pescado				
	13 días	16 días	20 días	22 días	26 días
Regular	28,4 D	31,66	424,0 A	712,0 A	
CTC	0,59	0,74	4,8 D	40,8	73,2 B

A = Olor pútrido  
 B = Olor fuerte  
 C = Olor medio  
 D = Olor suave

Como conclusión, puede decirse que para la preservación del pescado los antibióticos más efectivos son las tetraciclinas y en particular la clorotetraciclina, pues prolongan la vida de almacenamiento y retardan el deterioro del pescado y de filetes de éste. El incremento del tiempo de almacenamiento depende de la temperatura y de la frescura inicial del producto; además no se observa un incremento en el pH o en el contenido de trimetilamina, ni un decremento en las características organolépticas (Farber, 1954; Tarr, et.al., 1954; Firman, et.al., 1956; Lerke y Farber, 1957; Farber, 1959).

El efecto preservativo de los antibióticos en los moluscos y crustáceos es un tanto complicado, ya que estos alimentos se manejan crudos o cocidos, añadiéndose, por ejemplo, el problema de la cutícula en el camarón. Se reportan controversias en lo que se refiere a la eficacia del antibiótico para prolongar la frescura de los crustáceos por la razón anterior; sin embargo, algunos reportes muestran el beneficio potencial de algunos antibióticos para la preservación de los moluscos y crustáceos (Farber, 1954; Tarr, et.al., 1954; Firman, et. al., 1956; Lerke y Farber, 1957; Farber, 1959).

Farber mostró que sumergiendo camarón crudo, descabezado, con o sin cutícula durante 5 minutos en una solución de 15 ppm de clorotetraciclina en solución salina al 5%, se prolonga su frescura, dependiendo de la extensión del almacenamiento y de la temperatura con la que se conserva (Farber, 1954; Tarr, et.al., 1954; Firman, et.al., 1956; Lerke y Farber, 1957; Farber, 1959).

El camarón crudo con cutícula se preservó más con 15 ppm de clorotetraciclina que el camarón sin cutícula y crudo. Se mostró, también, que puede eliminarse el olor del camarón que se mantiene refrigerado en agua salada, mediante la adición de 5 a 10 ppm de CTC al medio de refrigeración (Farber, 1954; Tarr, et.al., 1954; Firman, et.al., 1956; Lerke y Farber, 1957; Farber, 1959).

Tarr reporta que una inmersión de ostras en 20 ppm de CTC durante 3 minutos retrasa el deterioro por acción bacteriana. Abbey, et.al., muestran que un lavado con 5-10 ppm de CTC reduce la cuenta bacteriana de ostras, incrementándose el tiempo del almacenamiento en comparación con los controles.

Tarr et.al., en 1954, reportan que tanto la CTC como la OTC en 20 ppm prolongan la vida de anaqueles de la carne de cangrejo cocida.

A pesar de los beneficios encontrados con la aplicación de antibióticos a moluscos, no se han realizado estudios suficientes para determinar la seguridad de su uso.

En el cuadro 2.8 se muestra que el empleo de antibióticos para la preservación de alimentos ha sido ampliamente utilizado por diversos países para una serie de productos importantes (Goldberg, 1964).

**Cuadro 2.8 Preservación de alimentos empleando antibióticos, en diferentes países**

País	Antibiótico permitido	Tolerancia permitida, ppm	Empleo en:
Argentina	Clorotetraciclina Oxitetraciclina	5-10	Carne, aves, pescado
Canadá	Clorotetraciclina Oxitetraciclina	7 5 10	Aves. Preservación de pescado en hielo Filetes frescos en tanques de inmersión
Gran Bretaña	Clorotetraciclina Oxitetraciclina Nisina  Nistatina	5  No se indica límite En piel, pero no en carne	Pescado crudo  Queso y ciertos alimentos enlatados Plátanos
Japón	Clorotetraciclina	5	Preservación de pescado en hielo

Cuadro 2.8 (Continuación)			
País	Antibiótico permitido	Tolerancia permitida ppm	Empleo en:
Japón	Oxitetraciclina	5	Pescado para pasta Salmón para enlatado
Noruega	Clorotetraciclina Oxitetraciclina	250	Desperdicios de carne de res de matanza para minks en el periodo de clima cálido
Estados Unidos	Clorotetraciclina Oxitetraciclina	5	Preservación de pescados en hielo; preservación de camarones y conchas
	Clorotetraciclina Oxitetraciclina	7	Preserv. de aves en tan- ques de agua nieve-hielo
URSS	Clorotetraciclina	5	Preserv. de bacalao en hielo, para transportarlo

(Goldberg, 1964)



### 2.3.3 Antibióticos adicionados a alimentos vegetales

Algunos ejemplos del empleo de antibióticos en vegetales y frutas son los siguientes: al emplear 25 y 50 ppm de oxitetraciclina se retrasa en más de 48 horas la podredumbre bacteriana en los vegetales. También se ha observado que de la aplicación de 1 000 unidades de penicilina y 200 mg de estreptomina por mL a pepinos en salmuera, en combinación con una temperatura de 71° C, no resultan cambios significativos en su textura. Así también, se pueden preservar fresas a 2° C por dos meses con aplicaciones de penicilina por inmersión (Kohler, et.al., 1955; Farber, 1959).

Se ha encontrado que los antibióticos más importantes para la preservación de frutas y vegetales son oxitetraciclina, clorotetraciclina y estreptomina. Los residuos encontrados en estos productos son de 5 ppm para las tetraciclinas y de 2 a 40 ppm para la estreptomina (Goldberg, 1964).

### 2.3.4 Preservación de alimentos enlatados

Se han realizado diversos experimentos en alimentos enlatados. Se sugiere una combinación de un tratamiento térmico suficiente para inactivar todas las esporas del Clostridium botulinum junto con la adición de algún antibiótico en cantidad suficiente para inhibir la germinación y crecimiento de las esporas supervivientes de las bacterias termófilas más termorresistentes de los anaerobios putrefactivos (Farber, 1959; Goldberg, 1964; Wheaton y Hay, 1964; Ayres, 1980).

Entre los antibióticos que se han empleado para estos estudios se encuentran los siguientes: (Adams, et. al., 1951, Frazier, 1976; Desrosier, 1977; Ayres, 1980)

- \* La subtilina que prevé el crecimiento de las bacterias después de que germinan, pero no detiene el crecimiento de organismos, como el Clostridium sporogenes, que causan deterioro en los alimentos. Este antibiótico sólo inhibe el crecimiento de las células más que impedir el crecimiento de esporas.
- \* La nisina que interfiere en la germinación de las esporas y en la lisis de la cubierta de las mismas. Este antibiótico se ha adicionado a productos enlatados a pH menor de 4,5 (Ayres, 1981).
- \* La tilosina que puede inhibir el crecimiento de las células.

Los antibióticos mencionados son termoestables, no se absorben en el organismo humano, causando menores daños que otros antibióticos en la flora intestinal (Adams, et.al., 1951; Wheaton y Hay, 1964).

Estos compuestos se emplean como un complemento de los tratamientos térmicos, de tal manera que su propósito no sea reducir el tratamiento térmico de los productos enlatados, los cuales ponen a salvo en contra del Clostridium botulinum (Wheaton, et.al., 1957; Farber, 1959; Goldberg, 1964; Wheaton y Hay, 1964).

No se tiene ningún antibiótico que muestre ser un sustituto del procesamiento térmico empleado en el enla-

tado de alimentos. El efecto del antibiótico es bacteriostático o esporostático pues afecta la germinación de las esporas y así las condiciones de inhibición son transitorias (Cameron, et.al., 1951).

Los residuos encontrados en los productos enlatados están dentro de valores de 1 a 20 ppm; dependiendo este residuo de la naturaleza del producto, del pH, del contenido de humedad, de la flora bacteriana y del grado de la aplicación térmica (Cameron, et.al., 1951; Stern, et. al., 1957; 1958; Wheaton, et.al., 1957; Farber, 1959; Goldberg, 1964).

#### 2.4 Aspectos toxicológicos de residuos de antibióticos en alimentos

##### 2.4.1 Uso veterinario

En lo que respecta a los usos veterinarios de los antibióticos, puede afirmarse que las cantidades ingeridas serán insignificantes si se toman medidas adecuadas para limitar las concentraciones residuales de esos antibióticos, ya sea en la leche o en los tejidos de los animales destinados a consumo humano. Por tanto, el Comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud informa que no se ha observado efecto tóxico para el hombre cuando se adicionan antibióticos a los piensos, o cuando se emplean para el tratamiento de las enfermedades de los animales o para la conservación de los alimentos. Una excepción posible es la presencia de residuos de cloranfenicol en la leche, pues este antibiótico se emplea en el tratamiento de amibiasis y otras enfermedades en el hombre (Farber, 1959; WHO/FAO,

1959; OMS, 1979; Maynard, et.al., 1980; Velázquez, et. al., 1980; Cruz, et.al., 1986).

Existen dos riesgos relacionados con la presencia de residuos de antibióticos en los alimentos, son: la sensibilización por el consumo de alimentos tratados con antibióticos y la aparición de reacciones anafilácticas en las personas previamente sensibilizadas por un tratamiento médico. Este último riesgo es nulo en el caso de los antibióticos que no se emplean con fines médicos como la nisina, pero si se trata de productos de uso difundido en la terapéutica, la aparición de esas reacciones en las personas sensibilizadas será tanto más probable cuanto más pequeñas sean las dosis para provocarlas (Antalovska y Kralovi, 1966; Small, 1968; Miszke, 1974; OMS, 1976; Schwabe, 1979; Reid, 1980; Drevon, et.al., 1981; Manten, 1981).

Algunos antibióticos empleados en medicina, en la alimentación de animales y en la industria de conservación de alimentos que dan lugar a mayor número de casos de sensibilización son: penicilina, estreptomycin, clo-ranfenicol, novobiocina, neomicina y oleandomicina. Se han dado, por ejemplo, casos de reacciones cutáneas provocadas por el consumo de leche con residuos ínfimos de penicilina en personas previamente sensibilizadas por un tratamiento médico. En cantidades de penicilina tales como 40 U.I. (unidades internacionales) (0,024 mg), administradas oralmente pueden provocar reacciones alérgicas (Farber, 1959; OMS, 1979; Ayres, 1981; Shiho Nakagawa y Tsucheya, 1981).

Algunas organizaciones y científicos se oponen a su uso pues objetan que el empleo continuo de niveles bajos de éstos en los piensos puede favorecer el desarrollo de cepas patógenas resistentes que podrían ser dañinas para el ser humano. Pero parece que no ha habido brotes de enfermedades graves en este período resultante de organismos resistentes. Por el contrario, se han aislado cepas patógenas menos virulentas que las no tratadas con antibióticos (Maynard, et.al., 1980; Church y Pond, 1982).

Un punto importante es la cantidad de antibiótico en el alimento que puede representar un riesgo para la salud pública cuando el antibiótico se encuentre a nivel tisular y se ingiera la carne. Aquellos niveles que dan por resultado residuos en los tejidos, implican una amenaza a la salud pública y son aquellos que exceden el nivel necesario para el efecto de crecimiento. Se asegura que los animales que llegan a la matanza con residuos de antibióticos en sus tejidos son aquellos que han recibido dosis profilácticas o terapéuticas; pero si se suspende la dieta 1 ó 2 días previos a la matanza, cuando se cocina la carne, éste no representa un riesgo (Goldberg, 1964).

Entre los antibióticos de interés médico, los únicos que se emplean para la conservación de alimentos son la clorotetraciclina y la oxitetraciclina. Aunque los casos de sensibilización a las tetraciclinas son muy raros, todas las pruebas realizadas llevan a suponer con bastante fundamento que la absorción de los antibióticos de ese grupo, empleados como agentes conservadores, no acarrea ningún riesgo de alergia (OMS, 1976).

En el cuadro 2.9 se presentan algunos antibióticos que se emplean en la terapia en animales, en humanos y en la conservación de alimentos.

Es conveniente aclarar que los efectos tóxicos se presentan cuando las dosis son mayores a las comunmente empleadas en terapéutica. Los residuos de antibióticos en alimentos pueden causar una sensibilización del individuo que haya tenido una terapia previa con el mismo tipo de antibióticos, aunque con este nivel de residuos es difícil que se presenten dichas reacciones (Baldwin, et.al., 1968; Robinson y Rywlin, 1970; Weinstein y Kaplan, 1970; Beirman, et.al., 1972; Calabrese, 1972; Brown, et.al., 1974; Elmore, et.al., 1974; Fossieck y Parker, 1974; Tedesco, et.al., 1974; Williams, et.al., 1974; San Fillipo, 1976; Luciano y Tarpay, 1976; Cacace, et.al., 1977; Karmody y Weinstein, 1977; Hammerson, 1980).

**Cuadro 2.9 Características de algunos antibióticos empleados en animales, humanos y en la conservación de alimentos**

Antibiótico	Acción inhibitoria	Distribución en el cuerpo	Excreción del cuerpo	Sobredosis	Reacciones tóxicas agudas	Dosis toleradas	Otras reacciones o efectos tóxicos
Penicilinas	Síntesis de pared celular (no tóxicos a células de mamíferos)	Buena distribución en todo el cuerpo, nivel bajo en el fluido cerebroespinal en caso de inflamación meníngea	Riñón, hígado	No hay efectos colaterales serios, pero sí riesgo de anafilaxis	Hipersensibilidad. a) Inmediata (anafilaxis, urticaria acelerada) b) Tardías (piel) c) Inmunes (anemia hemolítica, granulocitopenia, nefritis, hepatotoxicidad, intoxicación catiónica). Fiebre.	> 50 Mg/ml.	Reacciones de procaína (pseudooanafilaxis); encefalopatía penicilínica; coagulopatía inducida por penicilina; alérgicas tardías: urticaria generalizada, erupciones vesiculares; erupciones en la piel no alérgicas a la ampicilina; anemia hemolítica inducida por penicilina
Tetraciclinas	Síntesis de proteínas en las bacterias	Se absorben en el tracto gastrointestinal. Adecuada distribución en fluidos corporales y tejidos (cruzan la placenta)	Riñón, hígado (en menos proporción)	Causa toxicidad en hígado y azotemia	Toxicidad del hígado; uremia y nefrotoxicidad; toxicidad vestibular; hipertensión intracraneal	< 1-2 g/día	Cutáneas: a) fototoxicidad, b) hipersensibilidad en la piel. Reacciones en dientes y huesos
Cloranfenicol	Síntesis de proteínas en bacterias	Absorción por tracto gastrointestinal. Se distribuye en el cuerpo, fluido cerebroespinal, cerebro y ojo (cruza la placenta)	Orina	Causa encefalopatía o colapso circulatorio	Colapso circulatorio (síndrome Gray); encefalopatía		Anemia; Aplasia de la médula ósea; neuritis óptica; Anemia hemolítica con deficiencia en la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa.

Cuadro 2.9 (Continuación)							
Antibiótico	Acción inhibitoria	Distribución en el cuerpo	Excreción del cuerpo	Sobredosis	Reacciones tóxicas agudas	Dosis toleradas	Otras reacciones o efectos tóxicos
Eritromicina (macrólido) Oleandomicina Tilosina	Síntesis de proteínas en bacterias por ataque a los ribosomas	Se distribuye en tejidos y fluidos corporales	Hígado, Orina		Hipersensibilidad; irritación gastrointestinal		Toxicidad en hígado; pérdida de audición sensorial-neural; estenosis pilórica
Clindamicina Lincomicina	Síntesis de proteínas en bacterias en el sitio ribosomal	Se distribuye en tejidos y fluidos corporales (cruzan la placenta)	Orina, bilis	Hipersensibilidad	Paro cardíaco; hipersensibilidad		Diarrea y colitis pseudomembranosa; hepatotoxicidad
Bacitracina	Interfiere con la síntesis de pared celular de mucopolipéptidos	Destrucción en tracto digestivo			Nefrotoxicidad		



## 2.5 Métodos de análisis de residuos de antibióticos en los alimentos

Para la determinación de residuos de antibióticos en alimentos suplementados para animales, en tejidos animales o en otros productos alimenticios de origen animal, se emplean diversos métodos, entre los que destacan los métodos biológicos y los fisicoquímicos, los cuales se basan en las técnicas que a continuación se enumeran:

- Fluorometría
- Cromatografía en capa fina
- Cromatografía en fase gaseosa
- Cromatografía líquida
- Cromatografía líquida de alta presión

Actualmente la mayoría de los métodos oficiales reconocidos para analizar antibióticos en diversos tipos de muestras son procedimientos biológicos dentro de los que se incluye a los microbiológicos que se basan en la respuesta de un organismo sensible a un antibiótico bajo condiciones controladas.

Los métodos fisicoquímicos se emplean para analizar la presencia de estos compuestos en diversos tipos de muestras, éstos se fundamentan en la determinación cualitativa de ciertas reacciones coloridas que se obtienen con el empleo de diversos reactivos que las favorecen; en algunas propiedades físicas que pueden ser determinadas o en ciertas propiedades químicas que pueden presentar las diversas muestras a analizar.

En la actualidad no sólo se emplean los métodos microbiológicos individualmente, sino que se incluyen diversos métodos fisicoquímicos que pueden actuar como pruebas de confirmación o bien con el objeto de obtener extractos menos coloridos y ser de mayor utilidad para la realización de un método microbiológico fundamental en el análisis de diversas muestras alimenticias que contienen antibióticos, el cual se considera de alta confiabilidad.

En los métodos microbiológicos, la respuesta microbiana puede determinarse:

- \* Por la medición de zonas de inhibición en placas de agar sembradas,
- \* Por medición de la respuesta de crecimiento turbidimétricamente,
- \* Mediante observaciones de la actividad metabólica tal como crecimiento visible, hemólisis, acidogénesis u oxidación o reducción.

A continuación se explican las pruebas empleadas para determinar el efecto en microorganismos con diferentes antibióticos.

#### 2.5.1 Pruebas de difusión

Se basan en la técnica que permite la difusión de un antibiótico a través de un gel de agar previamente sembrado con un microorganismo sensible. Esta difusión puede ser de dos tipos:

- \* Difusión lineal, esto es, se establece un contacto entre un antibiótico y una columna de agar sembrada en un capilar o tubo prueba;
- \* Difusión radial alrededor de una placa adecuada de agar sembrada

El método de prueba en placa de agar es el más ampliamente empleado por su simplicidad en el manejo y en el equipo utilizado, además de que se prefiere la técnica de difusión radial. Es importante, sin embargo, evitar la presencia de sales, agentes de superficie activos y solventes que cambien las características de difusión de los antibióticos. De alterarse la difusión, las curvas que resultan al graficar dosis-respuesta, de la muestra contra el estándar, no pueden relacionarse e invalida la prueba.

La distribución de un antibiótico en el agar puede detallarse teóricamente por una expresión que incluya la cantidad de antibiótico, la profundidad de la capa de agar, la constante de difusión, la concentración a una distancia dada del recipiente y el tiempo de difusión. En teoría, se predice que el cuadrado del diámetro de la zona de inhibición será proporcional al logaritmo de la concentración del antibiótico (Grady y Williams, 1953; Mayernik y Fiori, 1971; Kline y Waitt, 1971; Breunig, et.al., 1972; Mayernik, et.al., 1972; Neff, 1973; Rayleb, et.al., 1973; Katz, et.al., 1974; Mayerhofer y Thompson, 1974; Thorpe, 1975; Neff y Thomas, 1978; Katz, et.al., 1978; Stahl, 1978; Ouderkirk, 1979; Pascal, et.al., 1979; Ragheb, et.al., 1979; Ragheb, 1979; Velázquez, et.al., 1980; Katz y Katz, 1983; Cruz, et.al., 1986).

### 2.5.2 Pruebas turbidimétricas

Estas pruebas se basan en el hecho de que entre un ámbito limitado de una concentración de antibiótico en el caldo nutritivo empleado, sólo se inhibe parcialmente el organismo prueba. En este ámbito, el crecimiento bacteriano es proporcional a la concentración del antibiótico (Kersey y Fink, 1954; Breunig, et.al., 1977; Mueller, et.al., 1979).

Es importante hacer notar que en los alimentos suplementados con antibióticos se dificulta obtener un extracto lo suficientemente confiable por métodos turbidimétricos usuales; de tal forma que los métodos desarrollados hasta ahora se basan en una extracción eficiente (Kersey y Fink, 1954).

### 2.5.3 Pruebas de dilución en serie

La prueba de dilución en serie sacrifica precisión pero gana sensibilidad. Esto se obtiene empleando un pequeño inóculo, un mayor período de incubación e incrementos mayores de dosificación.

A continuación, en el cuadro 2.10, se describen ejemplos de la gran variedad de métodos microbiológicos y fisicoquímicos modificados de acuerdo al tipo de antibiótico y al tipo de muestra (Jepsen, 1966; Begue y Kline, 1973).

Cuadro 2.10 Métodos microbiológicos y fisicoquímicos modificados de acuerdo al tipo de antibiótico y al tipo de muestra

Método	Antibiótico y tipo de producto en que se determina	Observaciones	Referencia
Microbiológicos	Bacitracina en alimentos terminados	Se realiza una extracción previa en el alimento, empleando un sistema de solventes orgánicos	Williams y Wornick, 1971
Cilindro en placa	Bacitracina en alimentos premezclados	Aplicación a premezclas que contengan 310 g de bacitracina/lb	Neff, et.al., 1970; Wright, 1970; Gallagher y Knott, 1982
	Clorotetraciclina en leche y productos relacionados	Modificación de la técnica clásica de cilindro en placa	Katz y Fassbender, 1970
	Estreptomicina en alimentos	Modificación del método oficial de la AOAC	AOAC, 1965; Mayernick y Fiori, 1970
	Monensina en raciones de pollos	Extracción previa de las muestras con solventes orgánicos y remoción de las sustancias interferentes con columna de alúmina	Kline, et.al., 1970
Fisicoquímicos	Cloranfenicol en leche descremada	Empleo de una columna de alúmina (Chromosorb 102) y de una resina intercambiadora de cationes	Schwartz y Donagh, 1984
Determinación por cromatografía líquida	Tetraciclinas en carne y pescado	Extracción previa de las tetraciclinas empleando HCl. Empleo de dos columnas analíticas para confirmación	Cieri, 1979; Onji, et.al., 1984
Determinación por cromatografía líquida de alta presión	Bacitracina en productos terminados y alimentos premezclados	Empleo de una fase de supresión iónica	Gallagher, et.al., 1982
Determinación por cromatografía de alta composición	Cloranfenicol en leche	Detección de trazas de cloranfenicol (5 ppb - 10 ppb)	Nal, et.al., 1980
Reducción del cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio	Penicilina en leche	Empleo del colorante verde S	Neal y Calbert, 1956; Hargrave, et.al., 1959; Folke, 1961; Johns, 1966; Jepsen, 1966
	Beta lactama en leche	Prueba rápida (15 minutos) para la detección de antibióticos	Charm y Chi, 1982
	Cloranfenicol en tejidos animales	Empleo de solventes orgánicos que puede variarse debido a la presencia de otros antibióticos diferentes al cloranfenicol	Wright, 1970; Ryan y Lapont, 1974; Winkler y Nyman, 1977
	Bacitracina en alimentos terminados	Método en el que se emplean las siguientes técnicas: cromatografía líquida de alta presión y fotometría	Gallagher, et.al., 1982
	Estreptomicina en huevos	Empleo de un surfactante y buffer para inactivar a la lisozima	Inglis y Katz, 1978
	Neomicina en huevos	Empleo de un surfactante y de centrifugación para eliminar los sólidos interferentes	Katz y Levine, 1978

(Jepsen, 1966; Begue y Kline, 1973)

## 2.6 Resistencia de bacterias a los antibióticos presentes en alimentos

En 1957, Smith y Crabb mostraron que el empleo de tetraciclinas en los alimentos de puercos y aves incrementaba el número de bacterias de Escherichia coli resistentes a las tetraciclinas. Watanabe (1963) mostró en otros estudios que la resistencia era transferible. La resistencia microbiana a los antibióticos no es peligrosa por sí misma, pero puede crear un problema de salud pública si la resistencia interfiere con el control de un determinado microorganismo, especialmente si éste es patógeno, ya sea en animales o en humanos (Farber, 1959; Ayres, 1981).

La resistencia a los antibióticos desarrollada por los microorganismos puede ser de dos tipos.

### 2.6.1 Resistencia natural

En la flora intestinal de los animales hay normalmente numerosos tipos de bacterias y la microflora que interviene en la deterioración de los alimentos es asimismo muy variada. Entre los numerosos microorganismos que componen ambos tipos de flora suele haber especies con resistencia natural para determinados antibióticos cuya presencia dará lugar inevitablemente a la reproducción selectiva de esas especies (OMS, 1976).

## 2.6.2 Resistencia adquirida

Los microorganismos sensibles a un antibiótico pueden hacerse resistentes después de un contacto prolongado con él (OMS, 1976; 1977; 1978; Watanabe, 1971; Ayres, 1980; 1981; Parker, 1982; Richard, et.al., 1982; Estruch, et.al., 1984).

La Salmonella spp es un microorganismo que puede contaminar productos alimenticios y causar enfermedad y muerte en los humanos. La Salmonella typhimurium se ha aislado de seres humanos y muestra factores R (elemento intracelular de resistencia transferible de un microorganismo a otro). Las reservas de Salmonella en animales decrece cuando estos últimos son infectados con un organismo sensible a algún antibiótico, pero se incrementan cuando se infectan los animales con un organismo resistente al mismo antibiótico empleado (Ayres, 1981; Estruch, et.al., 1984).

La resistencia de Salmonella typhimurium a la ampicilina se ha incrementado de 23,4% en 1969 a 36,9% en 1974. Por lo que respecta a la estreptomycin, el incremento ha sido de 27,3% a 45,6% y en el caso de la tetraciclina de 12,5% a 44,8% (Ayres, 1981).

En alimentos animales que contienen antibióticos se ha reportado un nivel considerable de coliformes resistentes a antibióticos (OMS, 1976; 1977).

Los humanos en contacto con animales que reciben alimento con antibióticos tienen una mayor cantidad de coliformes resistentes a antibióticos que las poblaciones control. Esto hace pensar que los coliformes resistentes a antibióticos pueden transferirse de animal a animal y del animal al hombre (OMS, 1976; 1977; 1978; 1982).

Por lo que respecta a la resistencia bacteriana y al empleo de antibióticos para la conservación de alimentos, conviene considerar dos casos: primero, el de los alimentos conservados constantemente a baja temperatura durante la preparación y distribución, hasta el momento de consumo y, segundo, el de los alimentos cuya temperatura de conservación exceda constantemente u ocasionalmente a 15° C:

- \* Cuando se conservan la carne, el pescado y las aves de corral con antibióticos a temperaturas de frigorífico, es decir inferiores a 5° C, los microorganismos patógenos no podrán reproducirse, aunque sean resistentes al antibiótico empleado. La eficacia del tratamiento será función de la intensidad de la contaminación ulterior con microorganismos resistentes al antibiótico y son capaces de reproducirse a baja temperatura.



En todas las instalaciones de tratamiento donde el material no se esterilice después de su uso, acabarán por predominar las cepas de microorganismos con resistencia natural o adquirida por contacto con el antibiótico y éste irá perdiendo su eficacia. Así ha ocurrido, por ejemplo, en el caso de contaminantes psicrófilos (Pseudomonas) que se multiplican en los depósitos de hielo triturado de los establecimientos avícolas y es de temer que suceda algo semejante en las calas de los barcos de pesca, en las cajas que sirven para transportar el pescado y en los mataderos donde se emplean antibióticos.

Así pues, cuando los productos cárnicos permanecen constantemente a temperaturas de frigorífico, no existe riesgo de intoxicación alimenticia pero sí la posibilidad de alterarse por la acción de las bacterias, las levaduras y los mohos resistentes (OMS, 1978).

- \* A temperatura de más de 15° C (ambiente) estos alimentos están expuestos a la contaminación con distintos microorganismos patógenos, aún cuando hayan sido tratados con antibióticos para prolongar su conservación. Los gérmenes patógenos que pueden contaminar la carne, el pescado y las aves de corral son muy numerosos, entre ellos se cuentan los estafilococos; pero los más peligrosos, sobre todo en el caso de la carne y las aves de corral, son las salmonelas y los clostridios, estos microorganismos proceden del intes-

tino de los animales. Hasta ahora, la cloro-tetraciclina y la oxitetraciclina no se han empleado en gran escala sólo que en el caso del pescado y las aves de corral conservadas a baja temperatura. Apenas se dispone de datos experimentales sobre el comportamiento de los microorganismos patógenos que puede haber en los alimentos tratados con antibióticos, conservados a temperaturas de más de 15° C (OMS, 1977).

## 2.7 Aspectos legislativos

### 2.7.1 Guías internacionales

De acuerdo a la FAO/OMS en 1970 se establecieron los niveles admisibles de residuos de antibióticos en los alimentos, los cuales se presentan a continuación en el cuadro 2.11.

Cuadro 2.11 Niveles admisibles de residuos de antibióticos en alimentos			
Antibiótico	Leche ppm	Carne ppm	Huevos ppm
Estreptomicina y dihidroestreptomina (calculada como base)	0-0,2	0-1,0	0-0,5
Neomicina (calculada como base)	0-0,15	0-0,05	0-0,2
Eritromicina	0-0,04	0-0,3	0-0,3

Cuadro 2.11 Continuación			
Antibiótico	Leche ppm	Carne ppm	Huevos ppm
Oleandomicina	0-0,15	0-0,3	0-0,1
Espiramicina	-	0-0,025	-
Tilosina	-	0,2	-
Penicilinas	0-0,006	0-0,06	0-0,018
Nistatina	0-1,1	0-7,1	0-4,3
Tetraciclina (calculada como base)	0-0,1	0-0,5	0-0,3
Clorotetraciclina (calculada como base)	0-0,02	0-0,05	0-0,05
Oxitetraciclina (calculada como base)	0-0,1	0-0,25	0-0,3
Novobiocina	0-0,15	0-0,5	0-0,1
Pimaricina	(Queso) 15	-	-
Cloranfenicol	0	0	0
Bacitracina (1 mg = 42 UI)	0-1,2 UI/mL	0-0,7 UI/mL	0-4,8 UI/mL
Polimixina B	0-2 UI/mL	0-5 UI/g	0-5 UI/g

Para la nisina se ha establecido que la ingesta diaria admisible (IDA) incondicional es de 33 000 unidades por kg de peso corporal.

#### 2.7.2 Normas de la Food and Drug Administration (FDA)

En el año de 1970, la FDA estableció los niveles admisibles de residuos de antibióticos en diversos alimentos, estas tolerancias pueden observarse en el cuadro 2.12 (Code of Federal Regulations, 1982).

**Cuadro 2.12 Límites permitidos por la FDA, EUA, de residuos de antibióticos en diversos alimentos de origen animal**

Antibiótico	Tejidos, vísceras y alimentos que contienen residuos de antibióticos	Animales en los que se encuentran	Límites permitidos ppm
Ampicilina	Leche		0,01
	Tejido	Cerdo y ganado vacuno	0,01
Bacitracina, bacitracina zinc, metilen disacilato de bacitracina	Tejidos sin cocimiento	Ganado vacuno, cerdo, gallina, pavos, faisanes, codornices	0,5 (0,02 UI/g)
	Leche y huevo		0,5 (0,02 UI/g)
Clorotetraciclina	Riñones crudos	Gallinas, pavos y patos	4
	Músculo, grasa, hígado y piel crudos		1
	Huevos		0

<b>Cuadro 2.12 Continuación</b>			
<b>Antibióticos</b>	<b>Tej., Vís. y Alim. que contienen Res.</b>	<b>Animales</b>	<b>Límites ppm</b>
<b>Clorotetra-</b>	<b>Riñones crudos</b>	<b>Cerdos</b>	<b>4</b>
	<b>Hígado crudo</b>		<b>2</b>
	<b>Grasa cruda</b>		<b>0,2</b>
	<b>Hígado y riñones crudos</b>	<b>Terneritas</b>	<b>4</b>
	<b>Músculo y grasa crudos</b>		<b>1</b>
	<b>Riñones, hígado y músculo crudos</b>	<b>Ganado vacuno y vacas lecheras sin lactación</b>	<b>0,1</b>
	<b>Grasa cruda</b>		<b>0</b>
	<b>Leche</b>		<b>0</b>
<b>Eritromicina</b>	<b>Tejidos</b>	<b>Cerdos</b>	<b>0,1</b>
	<b>Tejidos</b>	<b>Carne de res</b>	<b>0</b>
	<b>Leche</b>		<b>0</b>

Cuadro 2.12 Continuación			
Antibióticos	Tej., Vís. y Alim. que contienen Res.	Animales	Límites ppm
Eritromicina	Huevos crudos		0,025
	Tejidos	Gallinas y pavos crudos	0,125
Estreptomicina	Tejidos	Gallinas, cerdos, pavos y huevos	0
Lincomicina	Leche		0,15
	Tejidos	Gallinas y cerdos	0,1
Monensina	Tejidos	Gallinas y ganado	0,05
Neomicina	Tejidos	Ternerías	0,25
	Leche		0,15
Oleandomicina	Tejidos	Gallinas, pavos y cerdos	0,15
Oxitetraciclina	Rifones crudos	Gallinas y pavos	3

Cuadro 2.12 Continuación			
Antibióticos	Tej., Vfs. y Alim. que contienen Res.	Animales	Límites ppm
Oxitetraciclina	Músculo, hígado graso y piel crudos		1
	Tejidos	Cerdos	0,1
	Tejidos	Ganado, ternera de res, ganado lechero sin lactación y terneras lecheras	0,1
	Tejidos	Salmón y pez gato	0,1
Penicilina	Tejido	Ganado	0,05
	Tejido crudo	Gallinas, faisanes, codornices, cerdos y borregos	0
	Huevos, leche y derivados lácteos		0



Cuadro 2.12 Continuación			
Antibióticos	Tej., Vfs. y Alim. que contienen Res.	Animales	Límites ppm
Penicilina	Tejidos	Pavos	0,01
Tetraciclinas	Tejidos crudos	Terneritas, cerdos, ovejas, gallinas y pavos	0,25
Tilosina	Grasa, músculo, hígado y riñones crudos	Gallinas y pavos	0,2
	Grasa, músculo, hígado y riñones crudos	Ganado	0,2
	Grasa, músculos, hígado y riñones crudos	Cerdos	0,2
	Leche		0,05
	Huevos		0,2

**Cuadro 2.12 Continuación**

Antibióticos	Tej., Vís. y Alim. que contienen Res.	Animales	Límites ppm
Virginamicina	Riñones, piel y grasa	Cerdo	0,4
	Hígado		0,3
	Músculo		0,1
	Riñones	Gallinas	0,5
	Hígado		0,3
	Piel y grasa		0,2
	Músculo		0,1

### 2.7.3 Normas mexicanas

En México, en el artículo 207 de la ley general de salud, publicado por la Secretaría de Salud (1986), se establece lo siguiente: "Se considera contaminado el producto o materia prima que contenga microorganismos, hormonas, bacteriostáticos, plaguicidas, partículas radiactivas, materia extraña, así como cualquier otra sustancia en cantidades que rebasen los límites permisibles establecidos por la Secretaría de Salubridad y Asistencia."

Según información proporcionada por la Secretaría de Salud, el artículo anterior es el único reglamento con que se cuenta por el momento en lo referente a la presencia de antibióticos en alimentos en general; además de que tales límites permisibles no han sido establecidos aún, no obstante que se indican en dicho artículo (Mota, 1987).

Por otra parte, la Subdirección de la Regulación de Control Sanitario de Alimentos de la misma Secretaría comunicó que en México no se ha reglamentado la tolerancia de residuos de antibióticos en alimentos de diverso origen, aunque se ha participado en simposios del Codex Alimentarius dando una opinión sobre los diversos tipos de compuestos, estudiados en este trabajo, que deben legislarse a nivel mundial (Alonso, 1987).

En la actualidad se realizan en México diversos estudios para recopilar la información necesaria y legislar adecuadamente.

El Departamento de Sanidad Animal de la SARH está experimentando diversos métodos para la detección de antibióticos en alimentos (Gómez, 1987). El método que emplean para la detección de residuos de antibióticos como el cloranfenicol es el de cromatografía gaseosa.

Estos métodos se basan en las publicaciones que la USDA (United States Department of Agriculture) ha realizado (Gómez, 1987).

El Departamento de Sanidad Animal de la SARH está tomando como base las tolerancias de residuos establecidas por la FDA para, en base a estos estudios, determinar los niveles residuales que se permitirán de éstos en diversos alimentos para el caso de México (Gómez, 1987).

### 3. Hormonas

Las hormonas son sustancias producidas por distintas glándulas endócrinas, en cantidades bajas. Actúan como mensajeros químicos al ser transportadas por la sangre hasta determinados órganos, los cuales constituyen sus blancos u objetivos, regulando en ellos una gran variedad de actividades fisiológicas y metabólicas de los vertebrados (Lehninger, 1982).

Las hormonas pueden ser obtenidas por síntesis orgánica como en el caso del dietilestilbestrol (DES), hexestrol (HEX), dienoestrol y sus derivados correspondientes. También se encuentran naturalmente en los animales y en humanos: la testosterona, progesterona, estradiol, estrona; o en plantas superiores y en hongos como el zeranol (FAO/WHO, 1982).

Las células blanco contienen receptores hormonales específicos situados en el citosol. Estos receptores son proteínas especializadas capaces de fijarse a la molécula de la hormona con gran afinidad y especificidad (Kirk, et.al., 1979; Bienfait, et.al., 1980; Lehninger, 1982).

Se ha pensado también que la unión de la hormona a su receptor específico provoca la formación intracelular de una molécula mensajera que estimula o deprime alguna actividad bioquímica característica del tejido blanco específico de la hormona (Lehninger, 1982).

En la medicina humana se utilizan hormonas con diferentes fines como lo son: el tratamiento de la dismenorrea (menstruación dolorosa o difícil), endometriosis, sangrado uterino, así como también en mujeres con síntomas climatéricos. Se ha estimado que pueden emplearse en la prevención de osteoporosis postmenopáusica, así como en el tratamiento avanzado de carcinoma de pecho y endometrio (IARC, 1979; Kirk, et.al., 1979; FAO/WHO, 1982, Scanes y Harvey, 1984).

En el varón se emplean esteroides andrógenos en el tratamiento de la deficiencia testicular o ausencia de producción de testosterona (Dipalma, 1980).

Las hormonas o sustancias con actividad hormonal se emplean en la medicina veterinaria para terapia, profilaxis y en la producción animal con propósitos biotecnológicos (FAO/WHO, 1982).

La implantación de estos compuestos en animales ejerce un efecto favorable sobre su crecimiento, pues alcanzan un peso óptimo en menos tiempo y con costo menor (OMS, 1978).

Desde mediados de la década de los años cincuenta se han venido empleando para estos fines, pues se ha probado la importancia y eficacia de tales compuestos, que se consideran agentes anabólicos, en la producción de carne (FAO/WHO, 1982).

Se han utilizado diversos tipos de hormonas, tanto naturales como sintéticas, siendo el dietilestilbestrol

y el hexestrol las hormonas más utilizadas debido a los buenos resultados obtenidos; pero se ha encontrado, en experimentos con animales de laboratorio, que estas sustancias pueden quedar como residuos en tejidos comestibles.

El empleo de estas hormonas sólo puede considerarse aceptable si estas sustancias farmacológicamente activas no afectan la salud pública. Es por esto que es importante y debe atenderse al tipo y cantidad de residuos después de su uso (FAO/WHO, 1982).

### 3.1 El uso de hormonas como agentes anabólicos

El metabolismo se divide en dos fases principales: catabolismo y anabolismo. Durante el catabolismo, moléculas nutritivas complejas y relativamente grandes (glúcidos, lípidos y proteínas), provenientes del entorno o de los depósitos propios de reserva se degradan para producir moléculas más sencillas tales como ácido láctico, ácido acético, dióxido de carbono, amoníaco y urea, acompañándose de una liberación de energía química.

La fase constructiva o biosintética del metabolismo la constituye el anabolismo, en la cual tiene lugar la biosíntesis enzimática de los componentes moleculares de las células, tales como los ácidos nucleicos, las proteínas, los polisacáridos y los lípidos a partir de sus precursores sencillos precisándose de un consumo de energía química aportada por el ATP generado durante el catabolismo (Bienfait, et.al., 1981; Lehninger, 1982).

Lo que se pretende estimular es precisamente el anabolismo protéico, ya que de esta manera pueden obtenerse carnes sin grasa, suaves, de buen sabor, aumentando así la calidad de éstas.

Estas sustancias son capaces de favorecer la retención nitrogenada y su transformación protéica aumentando el anabolismo y/o disminuyendo el catabolismo (Bienfait, et.al., 1981).

Las hormonas (esteroides) actúan normalmente de la siguiente forma: se unen a proteínas receptoras específicas presentes en el citoplasma de las células sensibles a las hormonas: el complejo hormona-receptor se incorpora después a la cromatina.

Por ejemplo, por la actividad estrogénica sobre el oviducto del polluelo, se ha comprobado que la unión a la cromatina del complejo hormona-receptor hace aumentar grandemente los ritmos de transcripción de ciertos genes, produciendo la formación de proteínas tan características del huevo como son la ovoalbúmina y la lisozima, por un proceso que procede por formación intermedia de los mRNAs que codifican a dichas proteínas.

El propio complejo hormona-receptor actúa como agente inductor, posiblemente por su fijación a un locus específico del cromosoma apropiado, seguramente sobre un sitio comparable al operador de las procariotas (Bienfait, et.al., 1981; Lehninger, 1982).



Se pueden regular una gran variedad de actividades fisiológicas y metabólicas mediante el empleo de las hormonas como agentes anabólicos, tomando en cuenta su funcionamiento y su metabolismo, en caso concreto al anabolismo, en la producción de carne en diversos animales. Con el objeto de favorecer y dirigir específicamente una estimulación del crecimiento y una ganancia extra de proteína durante el período de alimentación, obteniéndose así un mejoramiento de la conversión alimenticia (Bienfait, et.al., 1981).

Para favorecer el anabolismo protéico, varios autores han desarrollado diversas teorías para explicar tal estimulación, pues aunque se sabe el mecanismo normal de las diferentes hormonas en el organismo humano y animal, se desconoce a ciencia cierta cómo se influencia tal metabolismo con el empleo de estos agentes anabólicos.

Según Maughin, et.al., el tratamiento con los agentes anabólicos provoca un descenso de urea plasmática, una disminución del aminoácido y, por tanto, un aumento en la síntesis protéica. Los anabolizantes empleados se presentan en el punto 3.3.

Otra teoría es que el tratamiento con los estrógenos aumenta la liberación hipofisiaria de hormona de crecimiento y provoca una concentración plasmática elevada de insulina y glucagon (Trenkle, 1976; Donaldson, et.al., 1981). Esta combinación aumenta las tasas de crecimiento y de insulina a nivel de la célula muscular y aumenta así el depósito protéico. Una de las principales acciones anabolizantes de los estrógenos es incre-

mentar la producción de hormona de crecimiento y de insulina (Mainwaring, 1977; 1980; Maughin, et.al., 1980; Michel y Baulieu, 1980).

Por otra parte se ha reportado que el DES y el acetato de trembolona (TBA) incrementan la producción de hormona de crecimiento y de insulina en el plasma; estas hormonas además estimulan el transporte de aminoácidos a través de la célula membranosa, aunque otros investigadores no han encontrado tal efecto (Maughin, et.al., 1981).

Mayer y Rosen (1975, 1978) propusieron que los andrógenos aumentan el depósito protéico desplazando a las hormonas catabolizantes (los corticosteroides) de sus sitios de fijación en la célula muscular disminuyendo la velocidad de degradación de las proteínas.

En células musculares de rata se ha observado que los andrógenos pueden reducir el número de receptores a los corticoesteroides, lo que reduce el catabolismo protéico (Maughin, et.al., 1981).

Así también, Vernan y Buttery (1976, 1978) mostraron que en ratas hembra tratadas con trembolona se reducía la velocidad de degradación y síntesis de las proteínas significativamente.

Una reducción de la velocidad de degradación es más importante que la velocidad de síntesis, resultando un efecto neto positivo en el crecimiento del depósito protéico.

### 3.2 Ventajas y efectividad del empleo de las hormonas en los animales

Las ventajas que se obtienen en diferentes animales por un tratamiento hormonal se resumen en el cuadro 3.1 (FAO/WHO, 1982).

La efectividad de los agentes anabólicos en el ganado se puede observar en el cuadro 3.2 (Hoffmann, 1978; Heitzman, 1979).

A continuación se enumeran y se dan las referencias correspondientes de los criterios a considerar antes de emplear un agente anabólico en la producción de carne:

- \* Estimulación de la retención de compuestos nitrogenados (Chan, et.al., 1975; Heitzman, et.al., 1977; Bienfait, et.al., 1980; Galbraith, 1980)
- \* Estimulación de la ganancia en peso (Beranger y Malterre, 1968; Best, 1972; Heitzman y Chan, 1977; Sheid, et.al., 1974; Vanderwall, et.al., 1975; Bastiman y Scott, 1977; Armstrong, et.al., 1978; Galbraith, 1980; Heitzman, et.al., 1980)
- \* Mejoramiento de los índices de consumo de alimentos (Heitzman y Chan, 1974; Galbraith, 1980)

**Cuadro 3.1 Ventajas obtenidas en diferentes animales por el empleo de un tratamiento hormonal**

Ganado vacuno	Incrementa la proporción de crecimiento Incrementa la retención de nitrógeno Incrementa la eficiencia de conversión de alimento en un período de 5 a 6 semanas antes de la matanza. En el ganado de res se emplean esteroides naturales, anabólicos sintéticos y fitoestrógenos como el zeranol.
Ganado lanar (corderos castrados)	Ganancia en peso
Ganado porcino (machos castrados)	Incremento en la proporción de crecimiento Incremento en la eficiencia de conversión del alimento Incremento en la proporción carne/grasa (esta característica es más pronunciada en este animal que los puntos antes mencionados)
Aves (gallinas, pollos, pavos--hembras y machos)	Incremento en la deposición de grasa en tejidos musculares (más pronunciada esta característica que los puntos siguientes) Incremento en el crecimiento y en la eficiencia de conversión del alimento (empleando andrógenos)

NOTA: Un exceso de los estrógenos puede convertir un efecto anabólico en un efecto catabólico.

Cuadro 3.2 Efectividad de los agentes anabólicos en el ganado vacuno					
Peso aproximado (canal)	Animal	Actividad hormonal			
		Estrógeno	Andrógeno	Andrógeno + Estrógeno	Progestágeno
500 kg	Macho	- +	-	- +	X
	Macho Castrado	+ +	- +	+ +	X
	Hembra	- +	+	+	+
100 kg	Macho y Hembra	+	-	+ +	X

- no efectivo
- + efectivo
- X datos no disponibles
- + al margen si hay efecto
- ++ altamente efectivo

Los efectos anabólicos son mayores en animales inmaduros y castrados.

- \* La calidad de la canal (Beranger y Malterre, 1968)
- \* Residuos de los agentes anabólicos y de sus metabolitos en canales (Heitzman, 1976; Hoffmann y Karg, 1976; Kroes, et.al., 1976; Verbeke, 1979; Hoffmann, 1978; 1980)
- \* Efectos secundarios mínimos sobre otras funciones del organismo (Barragy, 1974)
- \* Efectos tóxicos de los promotores de crecimiento en animales y el hombre (Calbert y Smith, 1976; Trenkle, 1976; Brown, 1980; Heitzman, 1980; Reid, 1980; Ross, 1980)
- \* Efecto tóxico en la descendencia en animales de laboratorio (Ferrando et.al., 1974; 1976; Bienfait, et.al., 1981)
- \* Vía administración (Heitzman, 1974; Hoffmann y Karg, 1976; Heitzman, 1980)

### 3.3 Hormonas empleadas

Las hormonas empleadas en la producción animal pueden ser de origen endógeno o exógeno (FAO/WHO, 1982).

Las de origen endógeno son hormonas esteroides tales como:

- \* 17- $\beta$ -estradiol
- \* Testosterona
- \* Progesterona

Se administran por implantación subcutánea, debido a que la dosificación oral baja la biodisponibilidad, debido a una rápida conjugación y transformación en el hígado.

Se usan estas sustancias libres o en forma de ésteres del ácido propiónico o benzoico, así se prolonga en 40 a 50% la vida media de estos compuestos en el organismo.

Las hormonas de origen exógeno son estrógenos, andrógenos sintéticos y progestágenos sintéticos.

Dentro de los estrógenos se encuentran: derivados del estilbena, dietilestilbestrol (DES) y hexestrol (HEX); etinilestradiol y zeranol. Todos estos con actividad biológica elevada y son activos, habiendo sido administrados oralmente o por implantación.

Entre los andrógenos sintéticos, pueden citarse: acetato de trembolona (TBA) y metiltestosterona. La mayoría de estos compuestos son esteroides con elevadas propiedades anabólicas empleados solos o en combinaciones.

Dentro de los progestágenos sintéticos se menciona el acetato de melengestrol. Este estimula el crecimiento en vaquillas pero no en novillos, se emplea también para supresión del estro.

El empleo de las hormonas en el alimento animal tiene por objeto aplicarse a: animales criados para la carnicería y animales con propósitos de crianza, para controlar sus funciones reproductivas: sincronización del estro y control de parto.

En el cuadro 3.3 se muestran los compuestos con actividad hormonal empleados en la crianza de animales (Heitzman, 1976; FAO/OMS, 1981; Anónimo, 1982; FAO/WHO, 1982).

Las sustancias activas empleadas como hormonas en la producción animal en México, Europa y Estados Unidos de América se presentan en el cuadro 3.4 (FAO/WHO, 1982).

Los agentes anabólicos que son utilizados como estimulantes del crecimiento en los animales causan diversos efectos, según se detalla en el cuadro 3.5 (referencias en cuadro).



Cuadro 3.3 Compuestos con actividad hormonal empleados en la crianza de animales			
Compuestos		Modo de Aplicación	Especies Animales
Endógeno	Xenobiótico		
- Control del estro, sincronización del estro:			
Progesterona + 17- $\beta$ -estradiol		Inyección	Ganado, oveja, cabra
		Intravagina	
	Progestágeno sintético acetato de cromadiona	Oral	Ganado, oveja, cabra y cerdo
Prostaglandina F <sub>2</sub> ♂	Prostaglandina F <sub>2</sub> ♂ (análogos)	Inyección	Ganado, oveja, cabra y caballo
- Parto:			
Prostaglandina F <sub>2</sub> ♂		Inyección	Ganado, oveja, cabra y cerdo
	Prostaglandina F <sub>2</sub> ♂	Inyección	Caballo
	Corticoides sintéticos (flumetasona o dexometasona)	Inyección	Ganado, oveja, cabra

Cuadro 3.4 Sustancias con actividad hormonal empleadas en la producción animal			
Sustancias	Dosis	Formas	Animal
Estrógenos solos:			
Dietilestilbestrol (DES)	10-20 mg/día	Aditivo de pienso	Novillo, borrego, aves, terneras
DES	30-60 mg/día	Implante	Novillos
DES		Solución oleosa	Terneras, becerros
Hexestrol (HEX)	12-20 mg	Implante	Novillo, borregos, aves de corral
17- $\beta$ -estradiol	24 mg 45 mg	Implante	Terneras, novillos (de pastoreo y corral)
Zeranol	12-36 mg	Implante	Novillo, vaquilla, terneras, borregos, becerros menores, becerros de destete, toros y vacas de desecho para engorda

Cuadro 3.4 Continuación			
Sustancias	Dosis	Formas	Animal
Progestágenos solos:			
Acetato de melengestrol (MGA)	0,25-0,50 mg/día	Implante	Vaquillas
	0,25-0,50 mg/día	Aditivo de pienso	Vacas y vaquillas
Andrógenos solos:			
Acetato de trembolona (TBA)	300 mg	Implante	Vaquillas, vacas de desecho
Preparaciones combinadas:			
17- <del>P</del> -estradiol + testosterona			Terneras
DES + testosterona	25 mg + 120 mg	Implante	Becerras, vaquillas, novillo
DES + metiltestosterona		Aditivo de pienso	Cerdos

Cuadro 3.4 Continuación			
Sustancias	Dosis	Formas	Animal
17- $\beta$ -estradiol + progesterona			Terneras
Hexestrol + TBA	30-45 mg + 300 mg	Implante	Novillos
Zeranol + TBA	36 mg + 300 mg	Implante	Novillos, vaquillas, borregos, terneras
17- $\beta$ -estradiol + TBA	20 mg + 140 mg	Implante	Toros, novillos, becerros, ovejas
Benzoato de 3- $\beta$ -estradiol + propionato de testosterona	20 mg + 200 mg	Implante	Vaquillas, becerros, novillos, borregos (hembras)
Benzoato de 3- $\beta$ -estradiol + propionato de testosterona	20 mg + 200 mg	Implante	Vaquillas, becerros, novillos, borregos
	10 mg + 100 mg	Implante	Beceros

Cuadro 3.4 Continuación			
Sustancias	Dosis	Formas	Animal
Progesterona + benzoato de estradiol	+ 200 mg 20 mg	Implante	Ganado (machos)
Dienoestrol diacetato			Aves
Monopalmitato de estradiol			Aves
Propionato de testosterona + benzoato de estradiol	+ 200 mg 20 mg	Implante	Vaquillas
Progesterona + benzoato de estradiol	+ 200 mg 20 mg	Implante	Novillo
Acetato de testosterona + valerato de testosterona + undecenoato de testosterona	12 mg + 12 mg + 36 mg	Inyección  Intramuscular  Profunda	Ganado

Cuadro 3.5 Acción o efecto, empleo y resultados de las hormonas empleadas como agentes anabólicos			
Hormona	Acción o Efecto	Empleo	Resultados
17- $\beta$ - estradiol	Induce la ovulación de las hembras. Promotor del crecimiento	En asociación con progesterona (machos), testosterona, progesterona (hembra y machos)	Potencializa la acción anabolizante cuando se asocia a otras hormonas. Estimula la retención nitrogenada y el aumento de peso con mejoramiento de la canal
Referencias: Grandadam, et.al., 1975; Henricks y Torrence, 1978.			
DES	Esfera genital en el macho y masculinización en la hembra. Promoción del crecimiento	Solo	Aumento de peso y mejoramiento en el índice de consumo (en vaca, ternera, becerro, toro). Mejoramiento en la relación carne/grasa en las canales, mejor suavidad y sabor.
Referencias: Goff, et.al., 1956; Baker y Arthaud, 1972; Ferrando, et.al., 1974; 1976; Trenkle, 1976; McMartin, et.al., 1978.			

Cuadro 3.5 Continuación

Hormona	Acción o Efecto	Empleo	Resultados
Progesterona y 19 Nortestosterona	Acción indirecta sobre el crecimiento animal	Solos (200 mg) o con asociación de estradiol (20 mg)	Disminución de las manifestaciones sexuales, por bloqueo del centro sexual del hipotálamo y por inhibición de la secreción gonádica de la hipófisis; aumento de peso, mejoramiento del índice de consumo y de la canal.
Referencias: Baker y Arthaud, 1972; Embry y Gates, 1976; Dinius y Baile, 1977.			
Zeranol	Acción anabolizante y en la esfera genital pero en esta última actúa en menor proporción	Solo en dosis pequeñas (36 mg)	Estimulación del aumento de peso, mejoramiento de el índice de consumo y de las canales. Asociado potencializa la acción anabolizante.
Referencias: Devuyt, et.al., 1960; Corah, 1980; Wiggency, et.al., 1980.			
Testosterona	Anabólica y a nivel sexual	Sola o en combinación con estradiol	Aumento en el peso y mejoramiento del índice de consumo y mejoramiento de la calidad de las canales (hembra/macho)
Referencias: Burris, et.al., 1953; Comberg, et.al., 1968; Rako y Mikule, 1968; Hoffman y Rattenberger, 1977; Bienfait, et.al., 1981.			

Cuadro 3.5 Continuación			
Hormona	Acción o Efecto	Empleo	Resultados
Derivados de Nor Test. y metiltest. y halógenos de test.	Eficaces como anabolizantes, alta actividad hormonal andrógena (masc., excit. sexual y nerv.) y muscular	Solos o en combinación	Regulación de la síntesis protéica a nivel núcleo celular de los músculos (resultado observado en ratas)
Referencias: Rogozkin, 1974; 1979; Viru y Korge, 1979; Bienfait, et.al., 1981.			
Acetato de trembolona	Acción anabolizante potente con un efecto andrógeno muy leve comparado con la testosterona	Con estradiol (machos); y con hexestrol y/o zeranol (hembras)	Aumento en la velocidad de crecimiento lo que mejora el índice de consumo y por tanto un aumento de peso. Mejor calidad de las canales.
Referencias: Beranger y Malterre, 1968; Best, 1972; Heitzman y Chan, 1974; Scheid, 1974; Zsumowski y Theret, 1976; Roche, 1978; Galbraith, 1979; 1980; Little, et.al., 1979; Heitzman, et.al., 1980.			



### 3.4 Residuos de hormonas

En cualquier discusión acerca de los riesgos para la salud humana debido al uso de hormonas en la producción animal, debe tomarse en cuenta la ocurrencia normal de éstas y sus metabolitos en los fluidos biológicos y en tejidos, además del hecho de que estas hormonas varían enormemente de acuerdo al estado fisiológico del animal. Lo anterior puede observarse en el cuadro 3.6 (FAO, 1982).

La concentración de los residuos depende: de la dosis administrada, de la proporción de crecimiento del tejido examinado y del lapso de tiempo entre el tratamiento y la matanza (FAO, 1982).

En el cuadro 3.7 pueden observarse las concentraciones de diversos agentes anabólicos en tejidos de ganado, tanto tratado como no tratado (Hoffmann, et.al., 1975; Hoffmann y Oettel, 1975; Hoffmann y Rattenberger, 1977; Henricks y Torrence, 1978; Hoffmann, 1978; Harwood, et.al., 1980; Hoffmann y Laschütza, 1980; Vogt, 1980).

Cuadro 3.6 Concentración normal de hormonas endógenas en diferentes tejidos comestibles de animales de granja				
Animal/tejidos	Estrona pg/mL	17- $\beta$ - estradiol pg/mL	Testosterona pg/mL	Progesterona pg/mL
<u>Terneras</u>				
músculo		<100	70	
hígado		<100	47	
riñón		<100	685	
grasa		<100	340	6
<u>Toro</u>				
músculo			335	
hígado			749	
riñón			2783	
grasa			10950	
<u>Vaquilla</u>				
músculo		12-13	92	
hígado		38-71	193	
riñón		40-71	595	
grasa	20-40	6	250	16

Cuadro 3.6 Continuación				
Animal/tejidos	Estrona pg/mL	17- $\beta$ - estradiol pg/mL	Testosterona pg/mL	Progesterona pg/mL
<u>Vaca preñada</u>				
músculo		370-860		
grasa	3870	2500-5500		336
<u>Novillos</u>				
músculo	6	14		
hígado	20	14		
grasa	23	10		
<u>Aceite de gérmen de trigo</u>		4000 pg/g DES equivalente		
<u>Aceite de frijol de soya</u>		2000000 pg/g DES equivalente		

Cuadro 3.7 Concentraciones de varios agentes anabólicos (pg/g) en tejidos de ganado tratado y no tratado					
Compuesto	Animal	Tejido examinado			
		Músculo	Hígado	Riñón	Grasa
Testosterona	Toro	535	749	2783	10950
	Vaquilla	92	193	595	250
	Ternera	16	39	256	685
	(Tratada) <sup>a</sup>	70	47	685	340
Progesterona	Vaca preñada				360200
	Vaquilla				16700
	Ternera				5800
	(Tratada) <sup>b</sup>				12500
17- $\beta$ -estradiol	Vaca preñada	370-860			
	Ternera (no tratada y tratada)	<100	<100	<100	<100
	Novillo	-	19,7	30,7	-
	Vaquilla	12,0	38,3	39,8	-
Estrona	Vaca preñada	120-2090			
	Ternera (tratada y no tratada) <sup>c</sup>	100	100	100	100

Cuadro 3.7 Continuación					
Compuesto	Animal	Músculo	Hígado	Riñón	Grasa
Trembolona	Novillo <sup>d</sup>	50	230	50	80
	Novillo <sup>e</sup>	50	50	20	80
	Ternera <sup>c</sup>	127	521	235	388
	Ternera <sup>f</sup>	797	3461	2563	2580
	Ternera <sup>g</sup>	1673	4930	4083	8893
DES	Ternera <sup>h</sup>	90 (113-300) <sup>i</sup>	270	770	n.d. <sup>j</sup>
	Ternera <sup>k</sup>	540	18900	8900	8300
	Ternera <sup>l</sup>	120-210	2300	1500	-
	Ternera <sup>m</sup>	50	240	170	-
Hexestrol	Vaquilla <sup>n</sup>	30	70	140	52
	Vaquilla <sup>o</sup>	35	77	50	110

a) Matanza 77 días después de la implantación de 20 mg de 17- $\beta$ -estradiol + 200 mg testosterona

b) Matanza 70 días después de la implantación con 20 mg de 17- $\beta$ -estradiol + 200 mg de progesterona

- c) Matanza 70-77 días después de la implantación de 20 mg de 17- $\beta$ -estradiol + 140 mg TBA
- d) Matanza 60 días después de la implantación de 40 mg 17- $\beta$ -estradiol + 200 mg TBA
- e) Implantación de 40 mg de 17- $\beta$ -estradiol + 20 mg de TBA, implante removido después de 60 días y matanza después de otros 15 días
- f) Matanza 70-77 días después de la implantación de 200 mg de 17- $\beta$ -estradiol + 1400 mg TBA (10 veces de la dosis normal)
- g) Matanza 70-77 días después de la implantación de 500 mg 17- $\beta$ -estradiol + 3500 mg de TBA (25 veces la dosis normal)
- h) Matanza 4 días después de la inyección intramuscular de 100 mg DES
- i) Músculo del sitio de inyección
- j) n.d. = no detectable
- k) Matanza 7 días después de inyección intramuscular de 200 mg de DES-dipropionato
- l) Matanza 28 días después de la inyección intramuscular de 150 mg de DES-propionato
- m) Matanza 90 días después de inyección con 150 mg de DES-propionato
- n) Matanza dos días después de la implantación con 60 mg hexestrol
- o) Matanza 7 días después de la implantación con 60 mg de hexestrol

### 3.5 Aspectos toxicológicos de residuos de hormonas

Los residuos de esteroides naturales encontrados en carne no afectan la salud del hombre por las razones siguientes:

- \* Son degradados por el hígado,
- \* El organismo del hombre produce una mayor cantidad diaria de estas hormonas y
- \* El consumidor se expone a niveles mayores de hormonas provenientes de carne y leche de animales no tratados (Kirk, et. al., 1961; Goth, 1977; Dipalma, 1980; Henricks, 1981; Lehninger, 1982).

Por el contrario, las hormonas en dosis altas pueden incrementar el riesgo de diferentes tipos de cáncer en animales de laboratorio y en el hombre, ya que estas hormonas pueden interactuar con factores químicos, físicos o virales, las cuales pueden estimular la formación de tumores y promover su crecimiento y metástasis (IARC, 1974; FAO/WHO, 1981).

El riesgo de cáncer debido a esteroides naturales está relacionado con la dosis y duración de la exposición, ya que afectan el estado normal hormonal del organismo (Anónimo, 1982; 1984).

Otro punto importante es que pueden consumirse esteroides acumulados en tejidos de animales tratados debido a una incorrecta administración o implantación (Coulston y Korte, 1976).

Por lo que se refiere a los agentes anabólicos sintéticos, es recomendable evaluar la potencia de su actividad hormonal y estudiar los efectos tóxicos que puedan producir sus metabolitos, con especial interés sus efectos no hormonales (Henricks, 1981).

En resumen debe considerarse lo siguiente, al emplear hormonas químicamente modificadas, agentes vegetales con actividad hormonal y agentes anabólicos de síntesis: (Church, 1974; Kirk, 1979; Warner, 1980; FAO/OMS, 1981; Church, 1982; Church y Pond, 1982; Scanes y Harvey, 1984)

- \* Los niveles residuales,
- \* Sus consecuencias endocrinológicas y toxicológicas no hormonales y
- \* Su probable actividad oncogénica

Para considerar seguro a un agente anabólico de este tipo, debe verificarse que los niveles de actividad hormonal de los residuos se encuentren por debajo del nivel mínimo esperado para causar una alteración de este tipo en el consumidor (Neumann, 1980; Anónimo, 1982; FAO/WHO, 1982).

En el cuadro 3.8 se compara la ingesta de esteroides anabólicos encontrados en la carne con la producción endógena en humanos de diversas edades (Reid, 1980; Henricks, 1981; Anónimo, 1982).



Cuadro 3.8 Producción endógena de hormonas en humanos e ingesta por la carne de animales tratados			
Producción en humanos <i>μg/dfa</i>	Testosterona <i>μg/dfa</i>	Estrógenos <i>μg/dfa</i>	Progesterona <i>μg/dfa</i>
Hombre adulto	6480	136	416
Mujeres:			
- valores durante el ciclo	240	190-1600	418-19600
- valores en embarazo tardío	320	64300	294000
- valores post menopausia	140	46	326
Niño, prepubertad	32	42	150
Cantidades máximas de hormona <i>μg</i> en 250 g de carne			
Ganado sin tratamiento	0,13 <sup>a</sup>	0,11 <sup>b</sup>	2,5 <sup>b</sup>
Novillo tratado	0,0006	0,0005	0,15
Vaquilla tratada	0,025	0,005	-

(a) Toro adulto

(b) Vaca preñada

El promedio per cápita de consumo de carne de res es de 157 g por día en los Estados Unidos de América. Los cálculos muestran que 157 g de res de un animal cuya implantación fue retirada 61 días antes de la matanza (20 mg de 17- $\beta$ -estradiol + 200 mg de progesterona o testosterona), presentarán residuos de 3,43 ng de estrógeno y 19,5 ng de progesterona ó 16 ng de testosterona (Bienfait, et.al., 1981; FAO, 1982).

En el cuadro 3.9 se muestra que en ciertos alimentos de origen lácteo aparecen niveles normales de estas hormonas, aún siendo fuentes ricas de ellas, encontrándose niveles menores de hormonas en la carne de animales tratados (FAO, 1982).

Cuadro 3.9. Hormonas en algunos alimentos de origen lácteo		
	Estrógenos pg/mL	Progesterona ng/mL
Leche de vacas no preñadas	80	9,5
Leche de vacas preñadas	126	
Crema		73
Mantequilla		133

La contribución relativa de la carne proveniente de vaquillas tratadas con hormonas y el total de la ingesta de hormonas vía alimento es la que se presenta en el cuadro 3.10 (FAO, 1982).

Cuadro 3.10 Contribución relativa de hormonas en carne de vaquillas tratadas al total de la ingesta de hormonas vía alimento		
	Estrógenos %	Progesterona %
Niños menores de 1 año	0,22	0,014
Niños de 6 a 8 años	1,56	0,1
Hombre adulto	7,69	0,5

En la mayoría de los casos, la contribución de la carne de animales tratados es insignificante cuando las hormonas han sido utilizadas adecuadamente, siendo así el riesgo casi nulo. Esto se hace más evidente cuando se observa en relación a la producción normal de hormonas endógenas en el hombre, como puede verificarse en el cuadro 3.11 (FAO, 1982).

Cuadro 3.11 Contribución de hormonas provenientes de vaquillas tratadas con hormonas, en relación a la producción total diaria de hormonas en el hombre			
	Estrógenos %	Progesterona %	Testosterona %
Niñas en pubertad	0,00636	0,00078	0,005
Niños en prepubertad	0,00826	0,00130	0,00244
Mujeres-fase folicular	0,00018	0,00047	
-fase lútea	0,00007	0,01	0,0004
Hombres	0,00025	0,00048	0,00003

Como se observa en los estrógenos, por ejemplo, la contribución máxima es menor que el 0,01% en el niño en la época de la prepubertad, el cual representa la producción endógena más baja de estrógenos.

### 3.5.1 Dietilestilbestrol (DES)

El DES es tumorigénico en varias especies animales. En humanos hay un riesgo de cáncer del endometrio en mujeres tratadas con DES por varios años, (el DES se empleó desde 1938 como un sustituto de estrógenos en el hombre), además se le relaciona con cáncer en el tracto genital bajo en la descendencia femenina tanto en humanos como en diversas especies animales (McLachlan y Dixon, 1976; McMartin, et.al., 1978; IARC, 1979).

En dosis relativamente pequeñas, el DES es tóxico para la descendencia. Esto ha sido demostrado en ratas de ambos sexos cuyo tracto genital sufrió modificaciones debido a su alimentación con carne de animales tratados con DES (Ferrando, et.al., 1974; 1976).

Algunos investigadores creen que el efecto tumorigénico del DES es consecuencia de su actividad estrogénica, mientras que otros opinan que además de ser hormonalmente activo, tiene la cualidad de ser una sustancia química carcinogénica (FAO, 1982). En general se cree que la primera etapa en la transformación química celular involucra un daño en el material genético posiblemente debiéndose a mutaciones somáticas (IARC, 1979).

Algunos estudios metabólicos del DES implican la potencia de este compuesto para interactuar químicamente

con macromoléculas celulares. Como en el caso de todos los carcinógenos químicos, se forman en el metabolismo compuestos intermedios del DES que son electrofílicos, en varias especies animales y en el hombre (Metzler, 1981).

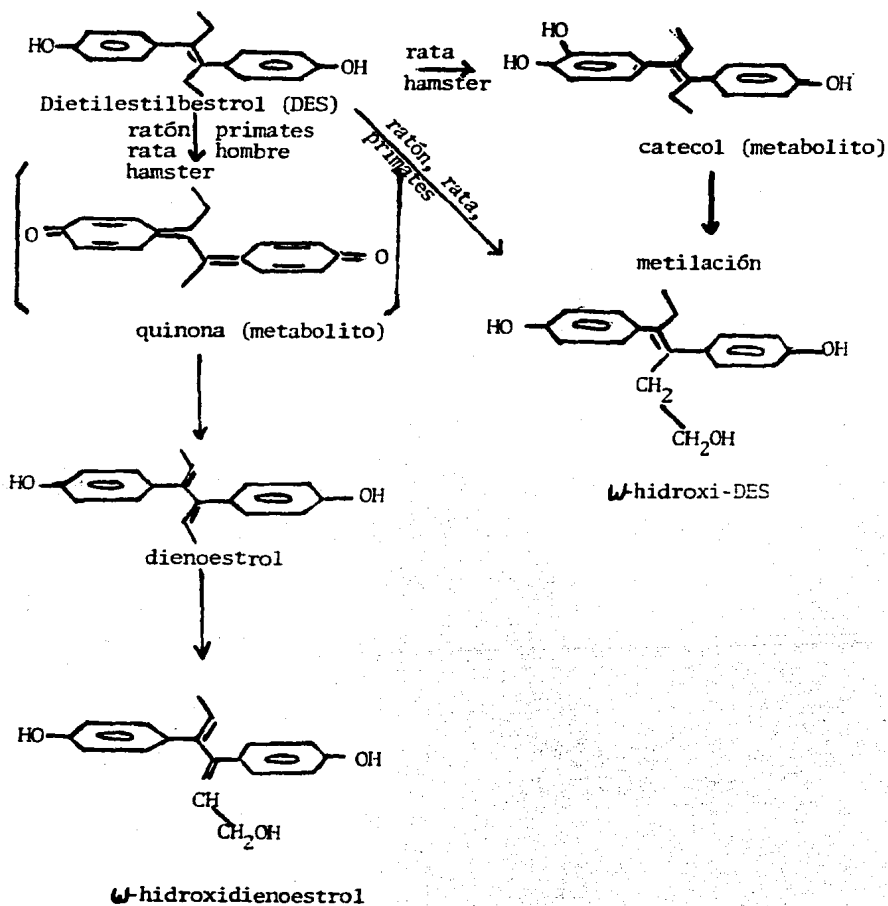
En estudios metabólicos en que se empleó DES marcado con isótopos radioactivos se comprobó uniones covalentes a ácidos nucleicos y proteínas (Metzler, et.al., 1980). Algunos de los metabolitos del DES son más genotóxicos que el DES y su activación metabólica es un prerrequisito de la genotoxicidad (Rudiger, et.al., 1979).

La biotransformación del DES ha sido estudiada en ratas, monos (Macaca mulatta (rhesus)) y en chimpancés. Se comprobó que es muy similar a la que se lleva a cabo en el humano. A continuación se describe tal biotransformación (IARC, 1977).

El DES se ortohidroxila al metabolito catecol, debido a la catecol o-metiltransferasa (Engel, et.al., 1976). Teniéndose como compuestos intermediarios en mayor cantidad en diversas especies de animales (ratas, ratones, hamsters, primates), el dienoestrol, el  $\omega$ -hidroxidienoestrol y el 2-hidroxidietilestilbestrol; la quinona intermedia se origina por oxidación (IARC, 1977; Metzler, 1980; 1981; Metzler, et.al., 1980).

La principal vía de excreción es la urinaria pero también se escreta en bilis y heces (Metzler, et.al., 1980); además la circulación enterohepática juega un papel importante. Lo anterior se resume en la figura 3.1.

Figura 3.1 Biotransformación del DES



Se han informado efectos tóxicos del DES además de su toxicidad genética. Por ejemplo, la inhibición de la reparación del DNA en linfocitos humanos en cultivos y la alteración de la respuesta inmunológica en ratones (Gaudin, et.al., 1974; Metzler, 1976; Luster, et.al., 1978;1980; Picot, 1981). El DES actúa sinérgicamente con los rayos X (Shellaberger, et.al., 1976) y los carcinogénicos químicos (Shellaberger, et.al., 1980) actúan en la formación de adenocarcinoma en ratas hembras. La exposición prenatal al DES y el tratamiento postnatal con el carcinogénico químico 7,12-dimetilbenzantraceno (DMBA) da como resultado un incremento significativo en el número de tumores mamarios comparando con ratas tratadas con DMBA solo (Boylan y Calhoon, 1979; Neumann, 1980).

El DES en cantidades extremadamente pequeñas, con una exposición continua, causará cierto daño genético (FAO, 1982).

Los carcinogénicos químicos actúan sinérgicamente pues, aunque se utilizaran dosis que no darían origen al desarrollo de tumores, podrían presentarse durante la vida de los animales (FAO, 1982).

Debido a los efectos genotóxicos del DES no es posible establecer un nivel de tolerancia para este agente anabólico.

### 3.5.2 Zeranol

Este compuesto es un derivado no esteroidal de la zeralenona, la cual deriva de una variedad de hongo (Giberella zeae) (Bienfait, et.al., 1981; Anónimo, 1982).

El zeranol tiene una actividad estrogénica baja y es metabolizado por el hígado (Anónimo, 1982).

El zeranol es un compuesto anabólico protéico y químicamente es una lactona del ácido resorcíclico (Bienfait, et.al., 1981).

Numerosos estudios concluyen que la toxicidad del zeranol es muy baja, por lo que se le considera como uno de los estimulantes de la retención nitrogenada más seguros (Brown, 1980).

Las pruebas de toxicidad (efectos carcinogénicos, endócrinos, no endócrinos y residuos) efectuados en numerosas generaciones de animales de experimentación resultaron negativas (Brown, 1980).

Sin embargo, en concentraciones elevadas, los únicos efectos observados se refieren a la actividad estrogénica del zeranol. Una concentración dietética de zeranol de 1 g/kg de peso corporal produjo un efecto estrogénico manifiesto en un estudio de 2 años de duración con perros, pero sólo se registraron efectos ligeros con concentraciones dietéticas de 1 mg y 100 mg/kg, los cuales además no guardaban relación con la dosis. En di-



cho estudio la concentración estimada de efecto nulo en cuanto a actividad estrogénica fue de 1 mg/kg de la dieta 6 25  $\mu$ g/kg de peso corporal (OMS, 1978; Brown, 1980).

Los residuos en las carnes son del orden de picogramos (Reynolds, 1980).

Los datos existentes sobre los residuos y metabolitos de zeranol indican que no sobrepasan 1  $\mu$ g/kg en los tejidos animales.

El comité de la OMS, opinó que las bajas concentraciones residuales de zeranol y sus metabolitos en los productos cárnicos serían muy inferiores a las concentraciones con las que se advierte actividad hormonal en modelos animales. Por lo tanto, este comité acepta provisionalmente el empleo de zeranol como agente anabólico en la producción de carne para consumo humano siempre que su empleo se ajuste a prácticas ganaderas correctas (OMS, 1980; FAO, 1982).

### 3.5.3 Acetato de trembolona (TBA)

El comité de la OMS expresó la opinión de que las bajas concentraciones residuales de acetato de trembolona y de sus metabolitos en los productos cárnicos están muy por debajo de las concentraciones con las que se observa actividad hormonal en modelos animales. De esta manera, tal comité aceptó provisionalmente el uso de acetato de trembolona como agente anabólico en la producción de carne para consumo humano, siempre que su empleo se ajuste a prácticas ganaderas correctas (Heitzman y Harwood, 1977; OMS, 1978; Ryan y Hoffmann, 1978; Hoffmann, 1980; Ross, 1980).

Por otra parte existe el interrogante sobre el sentido biológico de la unión covalente entre las protefinas y esta sustancia, al igual que en la mayoría de los agentes anabólicos (Ross, 1980).

Los complejos implicados en la mutagénesis, carcinogénesis y toxicidad hepática y renal representan una prueba de la agresión de dichas sustancias contra la especie blanco. No obstante, estas sustancias tienen una baja disponibilidad biológica, no alcanzando así un nivel alto de toxicidad (Bienfait, et.al., 1981).

#### 3.5.4 Los estrógenos en los niños

El infante recién nacido usualmente exhibe la influencia de altas concentraciones de estrógenos fetales presentes durante la fase final de la vida intrauterina. Después del parto estos estrógenos son rápidamente eliminados por el recién nacido. En consecuencia, el umbral de estrógenos entre los mecanismos reguladores de retroalimentación del sistema endócrino, particularmente el desarrollo ulterior de las gónadas, se disminuye sustancialmente. Los niños son 20 veces más sensibles a los estrógenos que los adultos. Esta situación dura hasta antes de la pubertad (Anónimo, 1982; FAO, 1982).

Aunque se tienen pocos datos acerca de la "dosis-efecto", la cantidad para suprimir la función de la pituitaria anterior en los niños en la pre-pubertad es de 5 mg etinilestradiol/m<sup>2</sup> de superficie corporal/dfa. La inducción de los efectos estrogénicos depende no tanto de la cantidad de una dosis única como del tiempo de exposición (Bidlemaier, 1980).

Los signos que aparecen después de la exposición de los estrógenos son: el desarrollo de la glándula mamaria, pigmentación de los pezones y de las áreas de alrededor, estrogenización del epitelio vaginal y sangrados tipo menstruación.

Algunas relaciones en cuanto a la dosis en niños de 10 años de edad y aplicación de etinilestradiol son las siguientes:

- \* 0,001 mg/día, no hay anormalidades clínicas;
- \* 0,005 mg/día, aparición de síntomas clínicos y
- \* 0,2-0,3 mg/día, inhibición del crecimiento corporal (Knorr, 1980; Anónimo, 1982).

### 3.6 Métodos de análisis de residuos de hormonas en alimentos

Con el objeto de detectar residuos de hormonas en carne y vísceras de animales, se han desarrollado diversos métodos (FAO/OMS, 1981). Los métodos que se empleen deben estar aprobados por la Organización Internacional de Estandarización (OIE).

De acuerdo a Kroes, et.al., (1971,1976), a continuación se enumeran los métodos existentes.

#### 3.6.1 Método histológico

Con el método histológico se hace posible concluir si se han empleado estrógenos (naturales o sintéticos) en animales. Este método consiste en la observación de

las modificaciones genitales del macho y de la hembra. En machos, se examinan las glándulas bulbouretrales y la próstata, mientras que en hembras la atención se centra en las glándulas de Bartolin, las tetillas, la vagina y el cérvix.

Cuando se emplean sustancias como el DES, hexestrol y zeranol se obtienen modificaciones histológicas notables: en cambio el uso de estrógenos naturales combinados con la testosterona y progesterona producen ligeras modificaciones histológicas al igual que los fitoestrógenos (FAO/OMS, 1981).

### 3.6.2 Métodos biológicos

- \* Prueba de Astwood, en la cual se mide el incremento del peso del útero en ratones y en ratas durante la prepubertad.
- \* Prueba de Allen y Doisy, basada en las modificaciones de la citología de la vagina de ratones adultos después de la ovariectomía. En esta se realizan observaciones de frotis vaginales para determinar las modificaciones citológicas.
- \* Prueba de Stob, ésta es la más sensitiva, pero responde únicamente a compuestos con actividad estrogénica, consiste en emplear extractos concentrados y colocarlos en la vagina de ratones, observando las modificaciones a nivel celular (FAO/WHO, 1981).

### 3.6.3 Métodos físico-químicos

Este tipo de métodos permiten identificar con precisión el agente anabólico buscado, requiriéndose de

procedimientos como extracciones y purificaciones de las muestras, a éstos les siguen el empleo de otras técnicas como las espectrométricas y cromatográficas como: capa fina, fase gaseosa, líquido-líquido y líquido de alta presión.

Hay otro tipo de métodos físico-químicos combinados:

- \* Análisis de fluorescencia de derivados fluorescentes y cromatografía en capa fina,
- \* Captura de electrones en cromatografía gaseosa y
- \* Análisis electroquímico y fluorométrico acompañados de cromatografía líquida de alta presión (FAO/WHO, 1981).

#### 3.6.4 Método radioinmunológico (RIA)

Este método se basa en la competencia entre la hormona a analizar y una hormona radiactiva, frente a frente, en sitios de fijación sobre un anticuerpo específico (Yalow y Berson, 1960). A continuación se determina la radiactividad de la hormona dirigida al anticuerpo, permitiendo tener una medida cuantitativa de la hormona no radiactiva presente en el medio biológico.

Este método se emplea para esteroides estrogénicos y es altamente sensible, pudiéndose detectar de 0,05 a 0,005 ppb de DES y 0,1 ppb de TBA (WHO/FAO, 1981; Maughin, et.al., 1981).

En los últimos años se han desarrollado otros métodos; por ejemplo, el método Elisa, el cual se aplica

para detectar la infección del cerdo por la Trichinella spiralis, en el cual se emplea una enzima marcada, seguida de una medición espectrofotométrica a 450 nm, este método tiene la posibilidad de poderse usar para medir niveles hormonales.

El método radioinmunológico es el que se considera más confiable en algunos países para la detección de residuos de hormonas, además de que se emplean pequeñas cantidades de muestra (0,1 a 1 g) y de extractos (FAO/WHO, 1981).

A continuación se presenta, en el cuadro 3.12, la sensibilidad de las técnicas para determinar residuos de hormonas (FAO/WHO, 1981).

Cuadro 3.12 Sensibilidad de las técnicas para determinar hormonas (ppb)										
Sustancia	Radio-inmunoológicos				Cromatografía en capa fina			Histológicos		Otros:
	Músculo	Hígado	Orina	Plasma	Carne	Orina	Heces	Astwood	(Próstata)	
DES	0,05-0,09	0,05-0,09		0,2	0,5-20	6	10	5(oral)	+++	Cromatografía líquida de alta presión
Hexestrol	0,04			0,03	0,5-80			-	+++	
Dienoestrol	-	-		-	0,5-40			-	++	Método Elisa
Etinil-estradiol	-	-		0,02	4-40			5	++++	
Zeranol					3-80			+ (subcutánea)	++++	
Zeralenona					3					
17- $\beta$ -estradiol	$\leq 0,05$	$\leq 0,05$		0,02	1	10		20	++	
17- $\alpha$ -estradiol	-	-		0,02	0,5	10		?	?	
Estrona	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	0,1	0,02	2			40	+	
Estradiol	0,5-1	0,5-1		-						
17- $\beta$ -estradiol + progesterona										
Progesterona	?	?		0,05	1-10					
Motoxi-progesterona					1-10					
16 $\beta$ -metil-progesterona					2-10					
Testosterona	?	?	$\leq 0,02$	$\leq 0,02$	2-8					
19 Nortestosterona				0,02						
Motiltestosterona				-	0,5-4					
Trembolona	0,1	0,1		0,2	0,2-10					
Trembolona + 17- $\beta$ -estradiol									+	
1-6 $\delta$ 5 Dehidro-testosterona	0	0			1-3					

### 3.7 Aspectos legislativos

#### 3.7.1 Guías internacionales

De acuerdo con la FAO/OMS, las tolerancias de residuos de hormonas en tejidos animales comestibles son las siguientes (FAO, 1982):

<u>Hormona</u>	<u>Tolerancia permitida en tejidos comestibles de ganado</u>
Dietilestilbestrol	0
Hexestrol	0
17- $\beta$ -estradiol	0
Zeranol	0
Acetato de trembolona	< 1 ppb
Acetato de melengestrol	< 10 ppb (en grasa, hígado, músculo y riñón)

#### 3.7.2 Normas en otros países

La situación de los agentes anabólicos en los Estados Unidos y en los países de la Comunidad Económica Europea se resumen en el cuadro 3.13.

Después de intensos estudios, se ha llegado a la prohibición de algunas hormonas como el dietilestilbestrol (DES) y a la aceptación de otras.



Como se puede observar, esta autorización o prohibición depende de los resultados obtenidos en los estudios realizados en cada país y del criterio que cada país tiene al respecto (Bienfait, et.al., 1981).

En Italia, Bélgica, Irlanda y los Países Bajos se han prohibido los agentes anabólicos debido a presiones de la oficina europea de consumidores unidos, de ciertas agrupaciones, de productores y del consejo de ministros de la agricultura. Es una política que se ha seguido y se argumenta que debe hacerse un estudio más profundo del problema y llegar así a una reglamentación común.

Cuadro 3.13 Situación de la legislación sobre agentes anabólicos en los Estados Unidos de América y en los países de la Comunidad Económica Europea, 1980.					
	E.U.A.	FRANCIA	INGLATERRA	R.F.A.	ITALIA BELGICA PAISES BAJOS IRLANDA
Estrógenos artificiales (DES)	DES Prohibidos desde 3 de agosto, 1979	Prohibidos	Autorizados	Prohibidos	Prohibidos
Estrógenos naturales (estradiol)	Autorizados	Prohibidos	Estradiol en curso de autorización	Autorizados	Prohibidos
Otros anabólicos	Autorizados: Acetato de trembolona, zeranol	Autorizados: 1) Hormonas masculinas, andrógenos naturales y derivados sintéticos. 2) Zeranol y ac. giberélico	Autorizados: Acetato de trembolona, zeranol	Autorizados: Acetato de trembolona, zeranol	Prohibidos

La FDA de Estados Unidos de América ha establecido las tolerancias de los residuos de hormonas en tejidos comestibles de diversos animales. Estas se resumen a continuación en el cuadro 3.14 (Code of Federal Register).

<b>Cuadro 3.14 Tolerancias de residuos de hormonas permitidas en tejidos comestibles de diversos animales</b>		
<b>Hormona</b>	<b>Residuos encontrados en tejidos comestibles de:</b>	<b>Tolerancia permitida ppm</b>
Benzoato de estradiol	Vaquillas, corderos, novillos	0
Monopalmitato de estradiol	Gallinas	0
Acetato de me- lengestrol	Ganado	0
Progesterona	Borregos, novillos	0
Propionato de testosterona	Vaquillas	0
Zeranol	Ganado, ovejas	0

### 3.7.3 Normas mexicanas

El Diario Oficial de la Nación del 29 de mayo de 1963 establece que la Subsecretaría de Ganadería regula la elaboración, importación, distribución, almacena-

miento, presentación y venta de los productos biológicos, farmacéuticos y alimenticios destinados a los animales de crianza para consumo humano; además, que las hormonas que se emplean deben corresponder a las especificaciones de los comerciantes; aunque no detalla la dosis requerida para la terapia, curación o estimulación del crecimiento, ni indica los niveles de residuos de hormonas permitidos que podrían encontrarse en diversos tejidos animales para consumo humano.

La Secretaría de Salud cuenta actualmente con el artículo 207 de la Ley General de Salud como reglamento para hormonas en alimentos. Sin embargo, tampoco especifica los niveles residuales permisibles en alimentos diversos; aunque se ha participado en seminarios internacionales del Codex Alimentarius para opinar acerca de las hormonas que deben regularse a nivel mundial (Alonso, 1987).

El Departamento de Sanidad Animal de la SARH realiza actualmente un amplio estudio para la implementación de diversos métodos, como el de cromatografía gaseosa, para la detección de hormonas como el zeranol y el dietilestilbestrol en carne. Estos métodos han sido publicados por el USDA (United States Department of Agriculture) y las tolerancias residuales de estos compuestos que pueden prevalecer en la carne están siendo comparadas con las que ha establecido la FDA (Gómez, 1987).

## 4. Conclusiones

### 4.1 Antibióticos

En los alimentos pueden encontrarse residuos de antibióticos por diversas causas:

- \* Presentes de modo natural,
- \* Adición a los alimentos por razones tecnológicas,
- \* Incorporados al agua o al hielo para enfriar el pescado y las aves,
- \* Aplicados a la corteza de los quesos, a vegetales y frutas para evitar que se desarrollen mohos,
- \* Agregados a los piensos para estimular el crecimiento de los animales y mejorar su rendimiento en carne,
- \* Con fines profilácticos y
- \* Uso terapéutico

Por su parte, los aditivos sólo deben emplearse en cantidades justamente necesarias para obtener el efecto deseado, manteniendo el nivel de residuos más bajo posible, ya que el empleo de éstos no debe atentar contra las normas de higiene habitualmente aplicadas a los alimentos.

El aspecto económico es una razón importante para respaldar el uso de antibióticos en los piensos, pues estos compuestos hacen posible producir más carne, huevos y leche de lo que sería probable sin ellos, debiéndose recordar que la deficiencia en proteína es crítica

en muchas áreas de producción y que al incrementar la producción de proteína animal de alta calidad puede ayudarse a mejorar la nutrición y la salud humana.

Ningún antibiótico deberá emplearse como aditivo para piensos cuando las dosis propuestas impliquen el riesgo de efectos microbiológicos que puedan ser perjudiciales para la salud de los animales o hacer que los alimentos de origen animal se vean perjudicados.

El empleo de antibióticos en veterinaria con fines profilácticos y terapéuticos plantea problemas tales como la elección del antibiótico, la dosis administrada y el tiempo que deba transcurrir entre el tratamiento y el sacrificio del animal.

Es un hecho ampliamente aceptado el que hay muy pocas probabilidades de que se presenten problemas graves con la adición de pequeñas cantidades de antibióticos (con niveles de unas 20 ppm), mientras que la adición de 100 a 200 ppm plantea el problema de la presencia de residuos en los alimentos, pudiendo dar lugar al desarrollo de organismos resistentes a los antibióticos, reacciones alérgicas o de sensibilización para el consumidor, destrucción de tejidos sensibles como el hematopoyético o el óseo en el hombre, siendo la causa principal de la resistencia el uso indiscriminado e inadecuado de estos compuestos.

Una información basada en la valoración de todos los datos toxicológicos y microbiológicos facilitará a las autoridades responsables de los animales de gana-

dería, veterinaria y de salud pública proponer la adopción de medidas de control apropiadas y eficaces.

La adición directa o indirecta de antibióticos a los alimentos requiere de controles de los residuos de dichas sustancias por medio de una legislación apropiada. Sería de gran utilidad definir con la mayor claridad posible los límites de residuos de antibióticos que podrían considerarse aceptables, indicando al mismo tiempo los métodos de laboratorio más adecuados para la determinación de tales niveles.

#### 4.2 Hormonas

El empleo de las hormonas es con el objeto de estimular el crecimiento acelerado en menos tiempo del habitual, obteniéndose así más cantidad de carne para consumo.

Es preferible emplear sustancias tipo hormonas que hayan sido perfectamente estudiadas y se disponga de análisis toxicológicos para evitar así cualquier riesgo para la salud humana.

Se cuenta con hormonas naturales y sintéticas y es conveniente evaluar su toxicidad, pues en ocasiones se cuenta con agentes anabólicos muy eficaces y difíciles de controlar (como las hormonas naturales); en otros casos son compuestos eficaces (como el dietilestilbestrol, hexestrol o el dienoestrol) pero el riesgo para el organismo humano es elevado.

**Para realizar una legislación en México de hormonas y antibióticos en alimentos de diverso origen, se requiere del apoyo de la Secretaría de Salud, la SARH a través del Departamento de Sanidad Animal y de la SEDUE, además de contar con el apoyo económico de las autoridades correspondientes para la realización de estudios profundos y efectivos.**



## 5. Recomendaciones

### 5.1 Antibióticos

Todo antibiótico altera las condiciones ecológicas de la descomposición microbiana de los alimentos, dando así lugar a un posible riesgo para el consumidor, no deberá emplearse como aditivo alimentario directo (intencional); además, se deberán investigar antes de su uso los efectos sobre la flora bacteriana normal del organismo del consumidor.

Es importante informar detalladamente en la etiqueta que acompaña a cada antibiótico y en los impresos para promover el consumo, acerca de los peligros que encierra el mal uso de los antibióticos.

Para su empleo como aditivos alimentarios directos (intencionales), solamente debe recurrirse a los antibióticos cuyo uso terapéutico no sea de gran importancia y que no den lugar a resistencia cruzada o no perjudiquen de ninguna otra forma el empleo terapéutico de otros antibióticos en medicina humana o veterinaria.

El empleo de ciertos antibióticos debe ser realizado con mucho cuidado pues puede favorecer la resistencia, la cual consiste en un incremento en el porcentaje de microorganismos resistentes provenientes de los animales, aunque no se tiene una evidencia sólida de que este incremento en los organismos resistentes en los animales haya causado problemas de salud en el hombre.

Los residuos de antibióticos presentes en los alimentos destinados al consumo humano deberán ser siempre lo más reducidos posible a consecuencia de su empleo como agentes profilácticos o curativos.

Los productores de leche deben descartar la que provenga de animales tratados con antibióticos, al menos en los tres días siguientes, como mínimo, posteriores a la suspensión del tratamiento. No hay que olvidar que existen medicamentos cuya eliminación por la leche dura hasta seis días.

Cuando los residuos de antibióticos resulten inevitables, deberá disponerse de la información necesaria, incluidos los estudios adecuados que abarquen toda la vida del animal de experimentación para poder valorar debidamente los riesgos que puedan presentarse a largo plazo.

La dosis de antibióticos ingerida con los alimentos debe ser 100 a 500 veces menor que una dosis terapéutica diaria del mismo antibiótico, de tal manera que la ingesta de antibiótico no origine problemas de sensibilización u otras reacciones alérgicas.

El empleo de antibióticos debe ser reglamentado. Cuando una dosis autorizada no produzca el efecto deseado, no se aumentará nunca sin una investigación previa de las causas de su ineficacia y de las posibles consecuencias del aumento de los niveles ingeridos.

Es recomendable que las autoridades pertinentes le otorguen la importancia que corresponde al problema de residuos en diversos alimentos, así deberán elaborar normas, realizando también evaluaciones toxicológicas y microbiológicas de determinados agentes quimioterapéuticos cuyos residuos, como ya se explicó, pueden aparecer en los alimentos de origen animal.

En lo que respecta a la salud pública, las autoridades en la materia deberían tomar en consideración la posibilidad de promover la investigación del fenómeno de la transferencia de la resistencia frente a los antibióticos en las condiciones prácticas en que se emplean éstos en la agricultura y en veterinaria y además realizar estudios de larga duración sobre los efectos de los residuos de antibióticos que pueden encontrarse en los alimentos destinados al consumo humano.

## 5.2 Hormonas

Es recomendable analizar a los agentes anabólicos, comparando las ventajas con los inconvenientes, así como los riesgos que se pueden tener a nivel del animal objeto y el consumidor mismo; ya que se trata de sustancias biológicamente muy activas y es peligroso no ejercer un control de éstas.

Debe permitirse la investigación dejando abierta la lista de productos autorizados y de productos prohibidos.

Para evitar el abuso en el empleo de los agentes anabólicos, se recomienda un tratamiento controlado estrictamente para proteger:

- \* A productores, eliminando del mercado las sustancias inactivas sobre el metabolismo protéico;
- \* Al consumidor, evitando el empleo de las sustancias peligrosas, prohibiendo la venta de animales que no han pasado por un período de excepción suficiente entre el tratamiento anabólico y la matanza, así como asegurar la eliminación de regiones de implantación o de inyección en el transcurso de las operaciones de habilitado de canales y
- \* A la población, contra una psicosis que dramatice el uso de agentes anabólicos.

Debe de otorgarse especial interés al desarrollo y empleo de métodos analíticos para la medición de residuos de sustancias prohibidas para lo cual deben de utilizarse métodos con una alta sensibilidad.

Se tienen que tomar en cuenta otros factores en la determinación de la seguridad de los agentes anabólicos, tales como:

- \* La consideración de las diferentes rutas metabólicas en los animales tratados,

- \* La naturaleza química y biodisponibilidad de los residuos en carne;
- \* Datos de pruebas de laboratorio adecuados tales como las de toxicidad crónica, mutagenicidad, carcinogenicidad, reproducción y teratogenicidad;
- \* Determinación de la ingesta diaria aceptable (IDA) de agentes anabólicos sintéticos.

Para la regulación de residuos de hormonas en carne y vísceras se recomienda emplear métodos rápidos, como el RIA, además como prueba confirmatoria un segundo método con una adecuada sensibilidad.

Debe fomentarse la búsqueda de hormonas que al usarse en ganado o en aves de corral no perjudiquen la salud del hombre ni a corto ni a largo plazo.

El control de residuos en alimentos para uso en el mercado mexicano interno es prácticamente inexistente. Tampoco se cuenta con ninguna reglamentación relativa al uso de antibióticos u hormonas, éstos se consiguen fácilmente sin prescripción profesional y se usan indiscriminadamente.

## 6. Referencias bibliográficas

Adams A.T., Ayres J.C. y Tisher R.G. 1951. The effect of subtilin and heat in preventing spoilage of comminuted beef. *Food Technology.*, 5:82.

Alonso C.G. 1987. Comunicación personal. Secretaría de Salud. México, D.F.

Allen E. y Doisy E.A. 1923. An ovarian hormone preliminary report on its localization, extraction and partial purification and action in test animals. *J. Amer. Med. Ass.*, 81:819.

American Physiology Society. 1977. Reactions to environmental agents. *Handbook of Physiology.* p. 27-28, 608-609. Bethesda, Maryland.

Andersen A.A. y Michener H.D. 1950. Effect of subtilin on bacterial spores. *Bact. Proc.*, 28:100-104.

Andersen A.A. y Michener H.D. 1950. Preservation of foods with antibiotics. I. The complementary action of subtilin and mild heat. *Food Technol.*, 4:188-189.

Anderson H.W. y Gottlieb D. 1952. Plant disease control with antibiotics. *Econ. Bot.*, 6:294.

Andrews F.N., Beeson W.M. y Johnson F.D. 1954. The effects of stilbestrol, dienoestrol, testosterone and progesterone on the growth and fattening of beef steers. *J. Anim. Sci.*, 13:99-107.

Anónimo. American chemical society. 1953. Nonpharmaceutical uses of antibiotics. *J. Agr. Food Chem.*, 1(18): 1096-1102.

Anónimo. 1974. Antibiotics present use and probable developments. *Pharmaceutical J.*, 212:181-184.

Anónimo. 1978. The risk/benefit concept as applied to food. *Canadian Inst. Food Sci. Technol.*, p. 1-6.

Anónimo. 1982. Reports on a WHO working group. Health aspects of residues of anabolics in meat. Regional office for Europe world health organization. Copenhagen. p. 28-31.

Antalovská A. y Králové H. 1966. Disturbances of dentine mineralization following oral administration of tetracycline. Oral Surg., 22:803.

AOAC. 1980. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 38.098. William Horwitz ed. p. 733.

Armstrong R.M., Speth C.F., Lesperance A.L. Hoffman D.J. y McCormick J.A. 1978. The effects of diet and zeranol on steer performance. Proceedings Western section. Am. Soc. An. Sci., 29:67-68.

Aschbacher P.W., Thacker E.J. y Rumsey T.S. 1975. Metabolites fate of diethylstilbestrol implanted in the ear to steers. J. Anim. Sci., 40(3):530-538.

Ayliffe G.A.J. 1975. Antibiotic policies. J. Ant. Chemother., 1:255-257.

Ayres J.C. y Kirshman J.C. 1981. Impact of toxicology on food processing. IFT. Avi. Phi. USA.

Ayres J.C., Mundt J.O. y Sandine W.E. 1980. Microbiology of foods. Ed. W.H. Freeman and company. Sn. Francisco. USA.

Baker F.H. y Arthaud V.H. 1972. Use of hormones or hormone active agents in production of slaughter bulls. J. Anim. Sci., 35(4):752-754.

Baldwin D.W., Levine B.B., McCluskey R.T., y Gallo G.R. 1968. Renal failure and interstitial nephritis due to penicillin and methillin. N. Engl. J. Med., 279:1245-1252.

Barber F.W. 1966. Aspectos higiénicos de la fabricación de la mantequilla, queso, leches aromatizadas y no fermentadas y helados. Serie de monografías No. 48. FAO/OMS, Ginebra.

Barbiers A.R. y Neff A.W. 1976. Screening and confirmatory method for determining Lincomycin residues in animal tissues. J. Assoc. Off. Anal. Chem. (AOAC), 59(4):849-854.

Barlett A. y Ritchie H.D. 1979. Effect of Ralgro implants on growth of sickling calves of the Chatham station. Res. Report. p. 159-161. Michigan State University.

Barragy T.B. 1974. Anabolic steroids: a review: Irish Vet. J., 28:28-33.

- Bastiman B. y Scott B.M. 1977. Growth promoting implants for beef cattle. British society of animal production. Winter meeting.
- Beckers J.F., Wouters-Ballmann P., Ectors y Derivaux J. 1978. Induction de l'oestrus chez les génisses en anoestrus fonctionnel. Ann. Med. Vet., 122:597-605.
- Begue W.J. y Kline R.M. 1973. Semiquantitative microbiological residue method for hygromycin B in chicken eggs. J. AOAC., 56(1):20-22.
- Beirman C.W., Pierson W.E., Zeitz S.J., Hoffman L.S. y Von Arsdel P.P. Jr. 1972. Reactions associated with ampicillin therapy. JAMA., 220:1098-1100.
- Benett G., Beaumont W.H., Brown P.R.M. 1974. Use of the anabolic agent zeranol, (resorcylic acid lactons) as a growth promoter to cattle. Vet. Rec., 94:235-239.
- Beranger C. y Malterre C. 1968. Influence d'un steroide trienique á activit  anabolisante sur l'engraissement des vaches taries. C.R. Soc. Biolog., 162:1157-1164.
- Best J.M.J. 1972. The use of trembolone acetate implants in heifer beef production at pasture. Vet. Rec., 91:624-626.
- Bienfait J.M., Van Eenaeme C., Lambot O. e Istasse L. 1980. Influence of anabolic steroids on some metabolites in growing fattening young bulls. Communication. 4th Int. conference on production disease in farm animals. M nchen 16-18 October.
- Bienfait J.M., Gielen M., Lambot O., Van Eenaeme C. et Istasse L. 1981. Le Probl me de l'anabolisation des animaux de boucherie. Ann. Med. Vet., 125:341-364.
- Blair R. 1982. Update on Canadian regulations governing drugs and growth promoters in animal feeds. Feedstuffs., 4(7):22-27.
- Boylan E.S. y Calhoon R.F. 1979. Mammary tumorigenesis in the rat following prenatal exposure to diethylstilbestrol and postnatal treatment with 7,12-dimethylbenz (anthracene). J. Toxicol. Env. Health., 5:1059-1071.
- Braude R., Kon S.K. y Porter J. 1953. Antibiotics in nutrition. Nutrition Abstr. and Revs., 23:473-495.



Breunig H.L., Kline R.M. y Bikin H. 1972. Microbiological assay of Monensin in chicken rations. JAOAC., 55(4):718-722.

Brian P.W., Curtis P.J. y Hemming H.G. 1946. A substance causing abnormal development of fungal hyphae produced by Penicillin ianczawskii ZAI I. Biological assay, production and isolation of curling factor. Trans. Britmyc. Soc., 29:173.

British Medical Journal. 1972. Tetracycline and blood urea. 3:370.

Brian P.W. 1954. The use of antibiotics for control of plant diseases caused by bacteria and fungi. J. Appl. Bacteriol., 17:142-151.

Broquist H.P., Kohler A.R. y Miller W.H. 1956. Retardation of poultry spoilage by processing with Chlorotetracycline. J. Agr. Food Chem., 4(12):1030-1032.

Brown C.H., Natelson E.A., Bradshaw M.W., Williams T.W. Jr. y Alfrey D.P. 1974. The hemostatic defect produced by carbenicillin. J. Med., 291:265-270.

Brown J.G. y Boyle A.M. 1944. Penicillin treatment of crown gall. Science., 100:528.

Brown R.G. 1970. An anabolic agent for ruminants. Am. Vet. Med. Ass., 157(11):1537-1539.

Brown R.G. 1980. Toxicology and tissue residues of Zeranol. Compte rendu de la conférence. The use, residues and toxicology of growth promoters. p. 31-37. Dublin, 9 April. Publ.: Aforas Taluntais. Dublin.

Burris M.J., Bogart R. y Oliver A.W. 1952. Alteration of daily gain feed efficiency and carcass characteristics in beef cattle with male hormones. J. Anim. Sci., 12:740-746.

Cacace L.G., Schweigert B.F. y Gildon A.M. 1977. Erythromycin estolate induced hepatotoxicity; report of a case and review of the literature. Drug. Int. Clin. Pharmacol., 11:22-25.

Calabrese A., Astolfi E. 1972. Toxicología. Ed. Kapelus S.A. Buenos Aires, Argentina.

Calesnik B.H. 1954. Antithyroid action of antibiotics. Science., 119:128-129.

Calvert C.C. y Smith L.W. 1976. Recycling and degradation of anabolic agents in animal excreta. In anabolic agents in animal production. Vol. 5 p. 203-211. FAO/WHO symposium. Rome. March, 1975. Edit. Lu and Rendel G. Thieme Publ. Stuttgart.

Cameron E.J. y Bohrer C.W. 1951. Food preservation with antibiotics: The problem of proof. Food Technol., 9:461-465.

Casarett y Doull's. 1980. Toxicology. Ed. Macmillan publishing Co. Ind. 2a Ed. New York, N.Y.

Catron D.U., Lane M.D., Quinn L.Y., Ashton G.C. y Maddock L. 1953. Mode of action of antibiotics in swine nutrition. I. Effect of feeding antibiotics on blood glucose. Antib. Chemother., 3(6):571-577.

Ceballos S.B. 1978. Evaluación del uso de promotores de crecimiento más comunmente empleados en México en cerdos. Tesis. UNAM. México.

Chan K.H., Heitzman R.J. y Kitchenham B.A. 1975. Digestibility and N-balance studies on growing heifers implanted with trembolone acetate. Br. Vet. J., 131:170-174.

Charles A. 1970. La ciencia de la leche. Ed. CECSA. México.

Charm S.E. y Chi R.K. 1982. Rapid screening assay for beta-lactam antibiotics in milk. Coll. study. JAOAC., 65(5):1186-1192.

Choi E.C., Nishimura T., Tanaka Y. y Yanaka N. 1981. In vivo and in vitro cross-resistance of Kanamycin-resistant mutants of *E. coli* to other aminoglycoside antibiotics. J. Antib., III(12):1527-1531.

Church D.C. 1974. Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. 3:121-136, 169. Acribia, Zaragoza, España.

Church D.C., Pond W.G. 1982. Basic animal nutrition and feeding. Cap. 16. p. 238-243. John Wiley and sons. New York.

Cieri U.R. 1979. High pressure liquid chromatographic detection and estimation of furazolidone and nitrofurazone in animal feeds. JAOAC., 62(1):168-170.

Code of Federal Regulations. Food and Drugs. 1982. The office of the federal register national archives and records service general services administration. Vol. 21. p. 414-416. Washington, D.C. USA.

Comberg Von G., Meyer H. y Wefering K.G., 1960. Uber den einfluss androgener substanzen auf die masleistung weiblicher junggrinder. Zuchtungsblunde., 40:205-213.

Comité de Expertos. Organización Mundial de la Salud. 1963. Problemas de salud pública relacionados con el uso de antibióticos en los alimentos y en los piensos. Serie de informes técnicos No. 260., Ginebra.

Comité Mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios. 1969. Normas de identidad y pureza para los aditivos alimentarios y evaluación de su toxicidad; diversos antibióticos. 12 Informe. Serie de informes técnicos. No. 430. Ginebra.

Comité Mixto FAO/OMS de expertos en higiene de la leche. 1969. Higiene de la leche. 3er informe. Serie de informes técnicos No. 453., Ginebra.

Cooper R.A. 1981. Some aspects of the use of the growth promoter zeranol in ewe lambs retained for breeding. I. Effect on liveweight gain and puberty. Br. Vet. J., 137:513-519.

Cooper R.A. 1981. Some aspects of the growth promoter zeranol in ewe lambs retained for breeding. II. Effects on reproductive tract, pituitary gland nad gonadotrophin levels. Br. Vet. J., 137:621-625.

Corah L.R., Brazle F. y Dawes J.D. 1980. Effect of Ralgro on the cull beef cows. Report of progress 377. March 7, 1980. Kansas State University.

Coulston F. y Corte F. 1976. Environmental quality and safety. Suppl. Vol. 5. Anabolic agents in animal production. Stuttgart, Geory Thieme. Verlag.

Curran H.R. y Evans F.R. 1946. The activity of Penicillin in relation to bacterial spores and the preservation of milk. J. Bact., 52:89-98.

Derivaux J., Ectors F., Beckers J.F. 1976. Donnees récentes en gynécologie animale. Ann. Méd. Vét., 120:81-102.

Desrosier N.W. 1976. Conservación de alimentos 2a. Ed. CECSA. México.

Devuyst A., Moreels A., Verback W., Henriët L., Vanbelle M. y Arnould R. 1960. L'activit'e oestrogénique de la uzanne et du tréfle violet. Agricultura., 3:467-490.

- Diario Oficial. Regulaciones para el control de productos biológicos, farmacéuticos para la ganadería. No.24, 29 de mayo de 1963, p. 1.
- Dinius D.A. y Baile C.A. 1977. Beef cattle response to a feed intake stimulant given alone and in combination with a propionate enhancer and anabolic agent. *J. Anim. Sci.*, 45(1):47-153.
- Dipalma J.R. 1980. Farmacología básica y terapéutica médica. p. 451-470. La prensa médica mexicana. México.
- Donaldson I.A., Hart I.C. y Hertzman R.J. 1981. Growth hormone, insulin, prolactin and total thyroxin in the plasma of sheep implanted with the anabolic steroid trembolone acetate or with oestradiol. *Res. Vet. Sci.*, 30:7.
- Duchatel J.P., Evrard P. y Maghuin-Register. 1981. Analyse qualitative de préparations anabolisantes clandestines. *Annales de médecine vétérinaire.*, 125:405-408.
- Ella I.M. y Barnes M. 1956. Problems in the use of antibiotics for preserving meat and fish. *Food Sci. Abstr.*, 28:121-136.
- Elmore M., Rissing J.P., Rink L. y Brooks G.F. 1974. Clindamycin associated hepatotoxicity. *Am. J. Med.*, 57:627-630.
- Embry L.B. y Gates R.M. 1976. Diethylstilbestrol, Zeranol or synovex implants for finishing steers. *J. Anim. Sci.*, 43(1):320.
- Enciclopedia Barsa. 1962. Antibióticos. Tomo II p. 340. Editores Enciclopedia Británica Inc. México.
- Erb E.R., Chew B.P. y Keller H.F. 1977. Relative concentrations of estrogens and progesterone in milk and blood and excretion of estrogen in urine. *J. Anim. Sci.*, 46:617-626.
- Ericsson H.M. y Sherris J.C. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an International collaborative study. *Acta Path Microbial. Scand. B. Suppl.*, 217:1-140.
- Estruch R.L., Callard M.L., Salmon P.E. y Ferrer M. 1984. Resistencia antibiótica de 1333 cepas de Salmonella frente a 14 antibióticos. *Rev. Cub. Hig. Epid.*, 22920:149-159.
- FAO/OMS and United Nations Environment Program. 1970. General principles for the use of food additives. General guidelines for national food control services.

- FAO/OMS. 1970. Normas de identidad y pureza para los aditivos alimentarios y evaluación de su toxicidad. Diversos antibióticos. 12° informe del comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios. Roma.**
- FAO/WHO Expert committee on food additives. 1982. Hormones in animal production. Animal production and health paper No. 31. FAO, Rome.**
- FAO/OMS Informe del comité mixto de expertos en aditivos alimentarios. 1981. Evaluación de ciertos aditivos alimentarios. Serie de informes técnicos No. 669. FAO. Ginebra.**
- Farber L. 1959. Antibiotics in food preservation. Annu. Rev. Microbiol., 13:125-140.**
- Fernicola N. y Jauge P. 1984. Nociones básicas de toxicología. OPS-OMS. Centro de Ecología Humana y de la Salud. Metepec, Edo. de México. México.**
- Ferrando R. 1982. Reflexiones sur le facteur de croissance idéal. Revue de Medecine Veterinaire., 133(1):57-58.**
- Ferrando R. y Thuhaut R. 1972. La toxicité re relais. Nouvelle approche pour la methodologie d'évaluation toxicologique des additifs aus alimento d'élevage. C.R. Acad. Sci., 275:279. París.**
- Ferrando R., Valette J.P., Henry N., Bolvin R., Paredi A. 1974. Toxicité de relais des viandes et foies provenant de veaux traité avec diverses hormones. Résultats globaux. C.R. Acad. Sc., 278:2067-2070. París.**
- Fincham, R.C. y H.H. Voelker. 1953. Dairy Sci., 36:594.**
- Firman M.C., Abbey A., Darken M.A., Kohler A.R. y Upham S. D. 1956. Effect of aureomycin chlorotetracycline on fish freshness. Food Technol., 10:381-384.**
- Food Science and Technology. 1967. Quality control in the food industry. Vol. I. Academic Press. London.**
- Foreman C.F., Jacobson N.L. y Freeman A.E. 1961. Dairy Sci., 44:141.**
- Forrest R.J. 1978. Differences in carcass proportions and composition in control and hormone-treated holstein friesian steers and bulls. Can. J. Anim. Sci., 58:333-338.**

- Fossieck B. Jr. y Parker R.H. 1974. Neurotoxicity during intravenous infusion of penicillin. A review. *J. Clin. Pharm.*, 14:504-512.
- Frazier W.C. 1976. Microbiología de los alimentos. Ed. Acribia. 2a. Ed. Zaragoza, España.
- Freedman M.L. y Meara P.T. 1959. Antibiotics contamination of milk-supplies as a veterinary and public health problem. *Practitioner.*, 5:3-16.
- Galbraith H. 1980. Effect of trembolone acetate on growth blood metabolites and hormones of cull beef cows. *Vet. Rec.*, 107:559-560.
- Galbraith H. 1980. The effect of trembolone acetate on growth, blood hormones and metabolites, and nitrogen balance of beef heifers. *Anim. Prod.*, 30:389-394.
- Gallagher J.B. y Knotts L.L. 1982. Cylinder plate assay for determining bacitracin in premix feeds and finished feeds: Collaborative study. *JAOAC.*, 65(5):1168-1177.
- Gallagher J.B. y Love P.W. y Knotts L.L. 1982. High pressure liquid chromatographic determination of bacitracin in premix feeds and finished feeds: Collaborative study. *JAOAC.*, 65(5): 1178-1185.
- Garrod L.P. 1965. Antibiotics in food. *Practitioner.*, 195:36-40.
- Garrod L.P., Lambert H.P. y O'Grady F. 1973. Antibiotic and chemotherapy, 4th Ed. London and Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Gaudin, et.al. 1974. DNA repair inhibition: a new mechanism of action of steroids with possible implication for tumor therapy. Proceedings of the Society for experimental biology and medicine., 146:401-405.
- Geddes A.M. y Williams J.D. 1973. Current antibiotic therapy. London Edinburgh, Churchill Livingstone.
- Glasby J.S. 1978. Enciclopedia de antibióticos. Ed. A. C. Madrid, España.
- Goffs, Swanson H.M. y Tiger H.L. 1956. Oral hormonizing of poultry feedstuffs., 28(11):69.
- Goldberg H.S. 1964. Nonmedical uses of antibiotics. *Advances Appl. Microbiol.*, 6:91-117.

Goldberg H.S., Weiser H.H. y Deatherage F.E. 1953. Studies on meat IV. The use of antibiotics in preservation of fresh beef. Food Technol., 7(4):165-166.

Gómez M.J. 1987. Comunicación personal. Laboratorios nacionales de referencia de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Tecamac, Hidalgo.

Goras T. 1979. Modified method for Carbadox in feeds: Collaborative study. JAOAC., 62(5):982-984.

Goth A. 1977. Farmacología Médica. p. 426-439. Ed. Interamericana. 8a. Edición. México.

Grady J.E. y Williams W.L. 1953. Determination of aureomycin in feeds by the pad-plate method. Antibiotics and Chemother., 3(2):158-164.

Grandadam J.A., Scheid J.P., Jobard A., Drevr. H. y Boisson J.M. 1975. Results obtained with trembolone acetate in conjunction with estradiol 17 $\beta$  in veal calves, feed of bulls, lambs and pigs. J. Anim. Sci., 41(8):969-977.

Halde C., Wright E.T., Pollard W.H., Newcomer V.D. y Sternberg. 1957. The effect of amphotericin B upon the yeast flora of the gastrointestinal tract of man. Antibiotics annual. 1956-1957. Medical Encyclopedia Inc. p. 123-127. New York, N.Y.

Halleck F.E., Ball C.O. y Stier E.F. 1958. Factors affecting quality of prepackaged. IV. Microbiological studies. Food Technol., 12:301-306.

Hamenson I.B. 1980. Quick reference to clinical toxicology. J.B. Lippincott Co. p. 111-143. PA, USA.

Heitzman R.J. 1976. The effectiveness of anabolic agents in increasing rate of growth in farm animals: report on experiments in cattle. In: Coulston F. and Carte, F. Ed. Environmental quality and safety, Suppl. Vol. V. Anabolic agents in animal production, Stuttgart, Georg Thieme Verlag. p. 89.

Heitzman R.J., Chan K. y Hart I.C. 1977. Liveweight gains, blood levels of metabolites, proteins and hormones following implantation of anabolic agents in steers. Br. Vet. J., 133:62-70.

Heitzman R.J. y Harwood D.J. 1977. Residue levels of trembolone and oestradiol 17- $\beta$  in plasma and tissues of steers implanted with anabolic steroid preparations. Br. Vet. J., 133:564-571.

Heitzman R.J. 1979. The efficacy and mechanisms of action of anabolic agents as growth promoters in farm animals. J. Ster. Biochem., 11:927.

Heitzman R.J. 1980. Manipulation of protein metabolism, with special reference to anabolic agents. In: protein deposition in animals. p. 193-203. Ed. P.J. Buttery and D.B. Lindsay. Publ. Butter Worths.

Heitzman R.J., Dixon S.N. y Harwood D.J. 1980. Growth, feed efficiency and carcass residues following growth promoters. Compte rendu de la conférence. The use, residues and toxicology of growth promoters. p. 49-53. Dublin Publ. A Foras Taluntais: Dublin 4.

Heitzman R.J., Chan K.H. y Hart I.C. 1977. Live weight gains, blood levels of metabolites, proteins in hormones following implantation of anabolic agents in steers. Br. Vet. J., 133-62-70.

Heitzman R.J., Harwood D.J., Kay R.M., Little W., Mallison C.B. y Reynolds I.P. 1979. Effects of implanting prepubertal dairy heifers with anabolic steroids on hormonal status, puberty and parturition. J. Anim. Sci., 48(4):859-866.

Heitzman R.J. 1980. Manipulation of protein metabolism, with special reference to anabolic agents. In: protein deposition in animals. p. 193-203. Ed. P.J. Buttery and D.B. Lindsay. Publ. Butterworths.

Henricks D.M. y Torrence A.K. 1978. Endogenous estradiol-17- $\beta$  in bovine tissues. JAOAC., 61:1280.

Henricks D.M. 1981. In: Jasiorowski H., Ed. Int. symposium on steroids in animal production. Warsaw, Ars Polonaruch., p. 161-170.

Hoffmann B. 1975. Aspekte zur anwendung rückstandsbildung und analytik von sexual hormones bei masttieren. In: Forschungsbericht der DFG, rückstände in fleisch-und fleischer zeu grisen, boppard harold boldt verlag, K.G. p. 32.

Hoffmann B. y Karg H. 1976. Metabolic rate of anabolic agents in treated animals and residue levels in their meat. In: Coulston F. y Corte F. Ed. Environmental quality and safety. Suppl. Vol. V. Anabolic agents in animal production. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. p. 181.

Hoffmann B. 1977. Rückstandsprobleme bei der hormonanwendung. Der pracktische tierarzi., 60:609.

Hoffmann B. y Laschütz W. Ent. wicklung eines. 1980. Radio immuno-test zur bestimmung von diäthylstilböstrol in blutplasma und ersbaren gewebe von rind. Archiv für lebensmitte, Hygiene., 31:105.



Hoffmann B. y Oettel G. 1975. Radioimmunoassay for free and conjugated trembolone and for trembolone acetate in bovine tissue and plasma samples steroids., 27:509.

Hoffmann B. y Rattenberger E. 1977. Testosterone concentrations in tissue from veal calves, bulls and heifers and in milk samples. J. Anim. Sci., 46:635.

Hoffmann B. 1978. Use of radioimmunoassay (RIA) for monitoring hormonal residues in edible animal products. JAOAC., 61:1263.

Hooker F. 1947. A bioassay for minute amounts of progesterone. Endocrinology., 41:158-168.

Hounie E. 1952. Possibility of using antibiotics in the preservation of canned meats. Food Sci. Abstr., 24:206.

Hubbert F. y Wallace J.D. 1959. Proc. West. Sec. Amer. Soc. Animal Sci., 10:49.

Hugo W.B. y Russell A.D. 1977. Pharmaceutical microbiology. Blackwell Scientific Publ. p. 69. Oxford.

Hyde W., Kiesey J., Ross P.F. y Stahr H.M. 1977. Analytical toxicology methods. Manual. p- 187-291. Iowa State Univ. Press. Iowa.

IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Sex hormones. 1974, 1979. Lyon Int. Agency for Res. on Cancer., Vol. 6, Vol. 21.

IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. 1979. Vol. 21 Sex hormones (II). Lyon, Int. Ag. for Res. on Cancer.

Inglis J.M. and Katz S.E. 1978. Determination of streptomycin residues in eggs and stability of residues after cooking. JAOAC., 61(5):1098-1102.

Jackson G.G. 1973. Practice, precision and promise in chemotherapy proceedings. Int. Congress on Chemother. Athens.

Jay J.M. Weiher H.H. y Deatherage F.E. 1957. Further studies on the preservation of beef with chlorotetracycline. Food Technol., 11:563-566.

Jepsen A. 1966. Residuos de antisépticos y antibióticos en la leche. OMS. Serie de monografías No. 48. FAO/OMS, Ginebra.

- Johansen de Campos M.C. 1976. Control de residuos de antibióticos en carnes. INCAP, Guatemala. Ed. Andrzej E., Olszynie-Mar.
- Johns C.K. 1966. Inspección de la leche a su llegada a la central. Serie de monografías No. 48. FAO/OMS., Ginebra.
- Kaemmerer K. 1981. Distribution and residues evaluation of active substances used as feed additives. The Vet. Quarterly., 3(4):183-187.
- Kaplan M.M., Abdussalam M. y Bijlenga G. 1966. Enfermedades transmitidas por la leche. Serie de monografías No. 48. FAO/OMS., Ginebra.
- Karmody C.S. y Weinstein. 1977. Reversible sensorineural hearing loss with intravenous erythromycin lactobionate. Ann. Otol., 86:9-11.
- Katz S.E. y Fassbender C.A. 1970. Sensitive microbial assay procedure for chlortetracycline in milk and related products. JAOAC., 53(5):968-972.
- Katz S.E., Fassbender C.A. y Dorfman. 1971. Simplified fluorometric determination of chlortetracycline in mixed feeds. JAOAC., 54(4):947-950.
- Katz S.E. y Fassbender C.A. 1973. Fluorometric determination of oxytetracycline in premixes. JAOAC., 56(1):17-19.
- Katz S.E., Fassbender C.A., Hackett A.J. y Mitchell R.G. 1974. Comparison of two analytical methods for penicillin residues in milk. JAOAC., 57(4):819-822.
- Katz S.E. y Levine P.R. 1978. Determination of neomycin residues in eggs and stability of residues after cookings. JAOAC., 61(5):1103-1106.
- Katz S.E., Fassbender C.A., Depaolis A.M. y Rosen J.D. 1978. Improved microbiological assay for penicillin residues in tissues and stability of residues under cooking procedures. JAOAC., 61(3):564-568.
- Katz J.M. y Katz S.E. 1983. Microbial assay systems for determining antibiotics residues in solids. JAOAC., 66(3):640-645.
- Kelley W.N. 1982. Qualitative ampule and multitest for Beta-Lactam residues in fluid milk products: Collaborative study. JAOAC., 65(5):1193-1207.

- Kermode G.O. 1975. Los aditivos alimentarios. Scient. Am. Ed. H. Blume. Madrid, España.
- Kersey R.C. y Fink F.C. 1954. Microbiological assay of antibiotics. Methods of biochemical analysis., 1:53-79.
- Kirk R.E., Othmer D.F., Scott J.D. y Standen A. 1979. Enciclopedia Tecnológica Química., 2:376. Unión tipográfica Hispanoamericana. México.
- Kline R.M. y Waitt W.P. 1971. Tylosin residues analysis in swine tissue. JAOAC., 54(1):112-115.
- Kline R.M., Stricker R.E., Coffman J.P., Bikin H. y Rathmacher R.P. 1970. Microbiological assay of Monensin in chicken rations. JAOAC., 53(1):49-53.
- Klis J.B., Witter L.D. y Ordal Z.J. 1959. The effect of several antifungal antibiotics on the growth of common food spoilage fungi. Food Technol., 13:124-128.
- Knorr D. 1980. Wirkung der Östrogene unde Östrogen wirksamer stüffe in Säuglings-und klein kin deralter. In: Proc. Symp. zuer problematic eines synthetishern oftrogengehaltes in Babykost. Frankfurt.
- Kohler A.R., Miller W.H. y Broquist H.P. 1955. Aureomycin chlortetracycline and the control of poultry spoilage. Food Technol., 9:152-154.
- Krassilnikov N.A. 1952. Antibiotics in plant cultivation. Priroda., 41:17.
- Kroes R., Berkens J.M., Loendersloot H.J. y Buitenberg E.J. 1971. Oestrogen-induced changes in the genital tract, of the male calf zbl. Vet. Med. A., 18:717.
- Kroes R., Huis. Int. Veld L.G., Schuller P.L. y Stephany R.W. 1976. Methods for controlling the application of anabolic in farm animals. In: Anabolic agents in animal production. Ed. F. Coulston y K. Korte. G. Thiene, Stuttgart.
- Laiten L., Gaspar V. 1978. Detection of trembolone residues in meat and organs of slaughtered animals by thin layer chromatography. J. Chromatography., p. 147, 838.
- Lehninger A.L. 1982. Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular. Ed. Omega, S.A. p. 817, 818, 820, 821, 1006. Barcelona.

- Lerke P.A. y Farber L. 1957. Prolongation of the keeping quality of fish and shellfish by antibiotics. Medical Encyclopedia, Inc. p. 966-974. New York, N.Y.
- Liener I.E. 1969. Toxic constituents of plant foodstuffs. Academic press. p. 369-370. New York, N.Y.
- Liener I.E. 1974. Toxic constituents of animal foodstuffs. Academic Press. p. 10, 18. New York, N.Y.
- Luciano J.R. y Tarpay M. 1976. Penicillin allergy. South Med. J., 69:118-120.
- Lück H. 1966. El empleo de agua oxigenada en la leche y los productos lácteos. Serie de monografías No. 48. FAO/OMS., Ginebra.
- Lueck E. S/F. Antimicrobial food aditives. p. 268-269.
- Luster M.I., et.al. 1978. Alteration of the antibody response following in utero exposure to diethylstilbestrol. Bulletin of environmental contamination and toxicology., 20:433-437.
- Luster M.I., et.al. 1980. The effect of adult exposure to DES in the mouse: Alterations in immunological function. J. Reticuloendothelial Society., 28:561-563.
- Maghuin R.G., Degand G., Duchatel J.P., Evrad P., Gaspar P. y Purnelli B. 1981. Les hormones anabolisantes. Mécanisme d'action, métabolisme et detection des résidus chez les animaux de boucherie. Annales de Médecine Vétérinaire., 125:365-374.
- Mainwaring W.I.P. 1977. The mechanism of action of androgens. In: Monographs on endocrinology. Vol. 10. Springer Verlag, New York.
- Mainwaring W.I.P. 1980. Steroids receptors. In: Cellular receptors for hormones and neurotransmitters. Ed. D. Schulster and A. Levitzki, John Wiley and Sons Ltd. p. 91.
- Maldonado A.D. 1980. Estudio bibliográfico de los antibióticos pertenecientes al grupo de penicilina, su situación actual y su futuro dentro de la medicina veterinaria. Tesis. UNAM. México.
- Malven R.V. 1977. Prolactin and other protein hormones in milk. J. Anim. Sci., 45:609.

- Manten A. 1981. Side effects of antibiotics. The Vet. Quarterly., 3(4):179-183.
- Martínez R. 1980. Estudios comparativos de antibióticos en forma de premezcla para una mejor conversión y prevención de enfermedades respiratorias en lechones. Tesis. UNAM. México.
- Marsh H.A. y King D.B. 1984. Scanes C.G. y Harvoy S. Hormones and growth in poultry. Poultry Sci., 63:2062-2074.
- Mayerhofer H.J. y Thompson S.J. 1974. Microbiological assay of oleandomycin in feed: Collaborative study. JAOAC., 57(4):823-827.
- Mayernik J.J. y Fiori G.Y. 1970. Microbiological assay of streptomycin in feeds. JAOAC., 55(1):116-120.
- Mayernik J.J., Fiori G.Y. y Hughes. 1972. Microbiological assay of streptomycin in feeds. JAOAC., 55(4):714-717.
- Maynard L.A., Looslie J.K., Hintz H.F., Warner R.G. 1980. Animal Nutrition Cap. 12 p. 356-357. McGraw Hill Book Co. New York.
- Mayoral P.D. 1946. Nociones de terapéutica y farmacodinamia. Talleres gráficos de la nación. p. 114-116. México.
- McLachlan J.A. y Dixon R.L. 1976. Transplacental toxicity of diethylstilbestrol: a special problem in safety evaluation. Vol. I. p. 423-448. Halsted press. New York.
- McMartin K.E., et.al., 1978. Diethylstilbestrol: a review of its toxicity and use as growth promotant in food producing animals. J. Environ. Path. and Tox., 1:279-313.
- Meder V. 1981. Revisión bibliográfica sobre antibióticos promotores de crecimiento de los animales domésticos. Tesis. UNAM. México.
- Messer J.W., Leslie J.E., Houghtby G.A., Peeler J.T. y Barnett J. 1982. Bacillus stearothermophilus Disk-assay for detection of inhibitors in milk: Collaborative study. JAOAC., 65(5):1208-1214.

Methods in hormone research. 1962. Vol. 2 p. 286. Ac. Press, New York.

Metzler M. 1976. Metabolic activation of carcinogenic diethylstilbestrol in rodents and humans. *J. Toxicol., Environmental Health*, Suppl. 1. p. 21.

Metzler M. 1980. Oxidative metabolism of stilben estrogene. In: McLachlan J.A., Ed. *Estrogens in the environ.* p. 243-303. Amsterdam, Elsevier.

Metzler M. 1981. The metabolism of diethylstilbestrol. *Brit. Rev. Biochem.*, 10:171-212.

Michel G. y Baulieu E.E. 1976. An approach to the anabolic action of androgens by an experimental system. In: *Anabolic agents in animal production.* Ed. F. Coulston y F. Korte G. Thierre. Stuttgart.

Michel G. y Baulieu E.E. 1980. Androgen receptor in rat skeleton muscle: characterization and physiological variations. *Endocrinol.*, 107:2088.

Miller W.H. 1956. Antibiotics introduced as spoilage inhibitor for fresh poultry. *Food Engin.*, 28(1):43-48.

Mitchell J.W., Zaumeyer W.J. y Anderson W.P. 1952. Translocation of streptomycin in bean plants and its effect on bacterial blights. *Science.*, p. 114, 115.

Miszke A. 1974. An attempt at explaining the ototoxic effects of low doses of streptomycin and dihydrostreptomycin, and the observation of recruitment of their noxious consequences. 29th Congr. Polish Otolaryng., p. 85.

Moellering K.C. Jr. y Schwartz M.N. 1976. The newer cephalosporins. *N. Engl. J. Med.*, 294:24-28.

Montes de Oca Z.N.A. 1979. Determinación de penicilina residual en leche pasteurizada consumida en el estado de Veracruz. Tesis. U. Ver. México.

Moore J.A., Dogenhardt E.F., Glass B. 1979. *Biología. Unidad, diversidad y continuidad de los seres vivos.* p. 25-27. CECSA. México.

Moore P.R., Evenson A., Luckey T.D., McCoy E., Eluehjem C.A. y Hart E.B. Use of sulfasoxidine, streptothricin and streptomycin in nutritional studies with the chick. *J. Biol. Chem.*, 165:437-441.

- Morgan B.S. y Goodman R.N. 1955. In vitro sensitivity of plant bacterial pathogens to antibiotics and antibacterial substances. *Plant Disease Rep.*, 39(6):487-490.
- Mota H.A.D. 1987. Comunicación personal. Secretaría de Salud. México, D.F.
- Mueller D.L., Brennecke, Reed S.J. y Waisner D.L. 1980. Turbidimetric microbiological determination of oxytetracycline hydrochloride in finished feeds and a feed premix: Collaborative study. *JAOAC.*, 63(5):1038-1043.
- Mueller D.L., Reed S.J. and Barkate J.A. 1979. Rapid automated turbidimetric assay for chlortetracycline hydrochloride, using Leuconostoc mesenteroides as the test organism. *JAOAC.*, 62(1):160-167.
- Neff A.W., Barbiere A.R., Miller C.C. y Stahl G.L. 1973. Microbiological assay of spectromycin in feed: Collaborative study. *JAOAC.*, 56(4):834-839.
- Neff A.W., Miller C.C. y Barbiere A.R. 1970. Microbiological assay of neomycin in feed: Collaborative study. *JAOAC.*, 53(1):60-68.
- Neff A.W. y Thomas R.W. 1978. Microbiological method for assaying Lincomycin in animal feed: Collaborative study. *JAOAC.*, 61(5):1107-1112.
- Neumann H.G. 1980. Biochemical effects and early lesions in regards to dose response studies. *Oncology.*, 37:255-258.
- Newburgh R.W. y Cheldelin V.H. 1955. Effect of antibiotics on the growth of Tilletia caries. *Plant disease Rep.*, 39(9):684.
- Nichell L.G. 1953. Antibiotics in the growth of plants. *Antib. Chemother.*, 3:449.
- Nyman M.A. y Winkler V.W. 1971. Extraction and microbiological assay of erythromycin in feeds: II. Collaborative study. *JAOAC.*, 54(4):944-946.
- O'Callaghan C.H. 1975. Classification of cephalosporins by their antibacterial activity and pharmacokinetic properties. *J. Ant. Chemother. (Suppl.)*, 1:1-12.
- Onji Y., Uno M. y Tanigawa K. 1984. Liquid chromatographic determination of tetracycline residues in meat and fish. *JAOAC.*, 67(6):1135-1137.

- O.M.S. 1975. Valoración radioinmunológica de hormonas para los ensayos clínicos de agentes de regulación de la fecundidad en los países de desarrollo. No. 578. Serie de informes técnicos., Ginebra.
- O.M.S. 1976. Importancia sanitaria de la resistencia de las bacterias a los antibióticos. 30(5):223-224., Ginebra.
- O.M.S. 1977. Aumenta la resistencia de las bacterias a los antibióticos., 31(12):591., Ginebra.
- O.M.S. 1978. Estrógenos empleados con fines distintos de la contracepción. Cap. 4 p. 42-43. En contracepción por esteroides y riesgo de neoplasia. Serie de informes técnicos No. 619., Ginebra.
- O.M.S. 1978. Vigilancia para prevenir y combatir los riesgos sanitarios provocados por las enterobacterias resistentes a los antibióticos. Serie de informes técnicos No. 624., Ginebra.
- O.M.S. 1982. Resistencia de las bacterias patógenas a los antibióticos., 36(5):205-211., Ginebra.
- Ouderkirk A.L. 1979. Bacillus stearothermophilus disc assay for detection of residual penicillins in milk: Collaborative study. JAOAC., 62(5):985-988.
- Parrilla C. 1987. Comunicación personal. Laboratorios nacionales de referencia de la Secretaría de Salud. México, D.F.
- Pascal C., Gaillard C. y Moreau M. 1979. Identification of nosiheptide in feeds and detection of residues in animal tissues. JAOAC., 62(5):976-981.
- Pestzka S. 1971. Inhibitors for ribosome functions. A. Rev. Microbiol., 25:487-562.
- Phillips A.W., Newcomb H.R., Robinson T. y Bach F. 1961. Experimental preservation of fresh beef with antibiotics and radiation. Food Technol., 15:13-15.
- Picot A. 1981. Le veau aux hormones esti-il toxique. La recherche., 12:488.
- Porter J.W.G. 1954. Antibiotics and nutrition. J. Appl. Bacteriol., 17:152-158.
- Potter N.N. 1978. La ciencia de los alimentos. Edutex, S.A. México.



- Pramer D. y Wright J.M. 1955. Some phytotoxic effects of five actinomycete antibiotics. *Plant Disease Rep.*, 39(2):118-119.
- Ragheb H.S., Black L.J. y Waisner D.L. 1979. Determination of virginiamycin in feeds. *JAOAC.*, 62(3):671-675.
- Ragheb H.S., Cummings A.M. y Browning B.M. 1973. Microbiological assay of oxytetracycline in feed: Manual turbidimetric assay and plate assay. *JAOAC.*, 56(1):23-30.
- Ragheb H.S. 1979. Pyridine extraction method for determination of bacitracin in feeds: Collaborative evaluation. *JAOAC.*, 62(3):662-670.
- Reid J.F.J. 1980. In: The use, residues and toxicology of growth promoters p. 24-30. Dublin, An Foras Tulantis.
- Robach M.C. 1980. Use of preservatives to control microorganisms in food. *Food. Technol.*, 34(10):81-84.
- Robinson M.J. y Rywlin A.M. 1970. Tetracycline associated fatty liver in the male. *Dig. Dis.*, 15:857-862.
- Rosenstein E. 1985. *Prontuario de Especialidades Vet.* Centro Profesional de Publicaciones, S.A. México.
- Ross D.B. 1980. Toxicology and residues of trembolone acetate. *Compte rendu de la conférence: The use, residues and toxicology of growth promoters.* Dublin.
- Ründiger H.W., et.al. 1979. Metabolites of diethylstilbestrol induce sister chromatid exchange in human cultured fibroblasts natura., 281:392-394.
- Ryan J.J. y Hoffmann B. 1978. Trembolone acetate: experiences with bond residues in cattle tissues. *JAOAC.*, 61:1274.
- San Filippo, J.A. 1976. Infantile Hypertrophic pyloric stenosis related to ingestion of erythromycin estolate: a report of five cases. *J. Ped. Surg.*, 11:177-180.
- Scanes C.G., Harvey S., Marsch J.A., King D.B. 1984. Hormones in growth poultry. *Poultry Science.*, 63:2062-2074.
- Scanes C.G., Harvey S. 1984. Hormones and growth in poultry. *Poultry Sci.*, 63:2062-2074.
- Schwabe C.W. 1979. *Veterinary medicine and human health.* 2a. Ed. The Williams and Wilins Co. p. 42. Baltimore.

Schwartz D.P. y McDonough F.E. 1984. Practical screening procedure for chloramphenicol in milk at low parts per billion level. *JAOAC.*, 67(3):563-565.

Secretaría de Salubridad y Asistencia. 1971. Legislación vigente en materia de salubridad y disposiciones conexas. Reglamento de aditivos para alimentos. p. 429-443. México.

Secretaría de Salud. 1986. Ley general de salud. p. 76. México, D.F.

Sharma R.P. 1985. Immunotoxicology of food constituents. *Food Technol.*, 39(2):94-97.

Shellaberger C.J., et.al. 1976. Synergism between neutron radiation and diethylstilbestrol in the production of mammary adenocarcinoma in the rat. *Cancer Res.*, 56:1019-1022.

Shellaberger C.J., et.al. 1980. Interaction of dimethylbenzathiacene and diethylstilbestrol on mammary adenocarcinoma formation in female ACI rats. *Cancer Res.*, 40:1808-1811.

Shiho O. y Tsuchiya K. 1981. IgE antibodies for penicillins and cephalosporins in rats. I.Characteristics of the IgE antibodies for penicillins and cephalosporins in rats. *J. Antib.*, 24(1):72-78.

Shiho O. Nakagawa Y. y Tsuchiya K. 1981. IgE antibodies for penicillins and cephalosporins in rats. II.Antigenic specificity of rat anti-penicillin-Ova IgE sera. *J.Antib.*, 34(1):79-83.

Shiho O. y Tsuchiya K. 1981. IgE antibodies for penicillins and cephalosporins in rats. III.Antigenic specificity of rat anti-cephalosporin-Ova IgE sera. *J. Antib.*, 34(1):84-89.

Small J.D. 1968. Fatal enterocolitis in hamsters given lincomycin hydrochloride. *Animal Lab. Care.*, 18:411.

Solberg Peter. 1966. La higiene de la leche en Noruega. Serie de monografías No. 48. FAO/OMS., Ginebra.

Stahl G.L. 1978. Microbiological assay of Lincomycin in swine and broiler feeds. *JAOAC.*, 61(1):39-42.

Stan H.J. y Anaham B. 1980. Determination of residues of anabolic drugs in meat by gas chromatography mass spectrometry. *J. Chromatography.*, 195:231.

- Stern J.A., Liebman H.L., Kudo G., Chapel J. y Olsen R.A. 1958. The potential application of antibiotics in the salmon canning industry. II. Chemical and Bacteriological evaluations. Food Technol., 12:132-136.
- Symposium (various authors). Mode of action of antibiotics on microbial walls and membranes. 1974. (Salton M.R.J. and Tomas A. Eds.) Ann. N.Y. Acad. Sci., 135:1-620.
- Stern J.A., Liebman H.L., Munkelt R.E. y Hatherell B. 1957. The potential application of antibiotics in the salmon canning industry. Medical Encyclopedia. Ind. New York, N.Y.
- Tarr H.L.A., Boyd J.W. y Bisset H. 1954. Experimental preservation of fish and beef with antibiotics. J. Agr. Food Chem., 2(7):372-375.
- Tarr H.L.A., Southcott B.A. y Bisset H. 1952. Experimental preservation of flesh foods with antibiotics. Food Technol., 9:363-366.
- Tedesco F.J., Barton R.W. y Alpers D.H. 1974. Clindamycin associated colitis. Am. Intern. Med., 81:429-433.
- Thomson H.E., Banwart G.W., Sanders D.H. y Mercuri A.J. 1967. Effect of chlorine, antibiotics,  $\beta$ -propiolactone, acids, and washing of Salmonella typhimurium on eviscerated fryer chickens. Poultry Sci., 46:146-151.
- Thrope V.A. 1975. Agar well technique for antibiotics in animal feeds. JAOAC., 58(1):95-98.
- Trenkle A. 1976, 1979. The anabolic effect of estrogens on nitrogen metabolism of growing and finishing cattle and sheep. In: anabolic agents in animal production. Ed. F. Caulston and F. Korte. G. Thiems-Stuttgart.
- Umberger E.J., Gass G.H. y Curtis J.M. 1958. Design of a biological assay method for the detection and estimation of estrogenic residues in the edible tissues of domestic animals treated with estrogens. Endocrinol., 63:806-814.
- Valle Vega P. 1986. Toxicología de los alimentos. OPS-OMS. Centro de Ecología Humana y de la Salud. Metepec, Edo. de México. México.
- Vaughn R.H., Henry H.G., Stewart G.F., Nagel C.W. y Simpson K.L. 1960. Antibiotics in poultry meat preservation. Development in vitro of bacterial resistance to chlortetracycline. Appl. Microbiol., 8:27-30.

- Vaughn R.H., Nagel C.W., Sawyer F.M. y Stewart G.F. 1957. Antibiotics in poultry meat preservation: A comparison of the tetracyclines. *Food Technol.*, 11:426-429.
- Velázquez F., Pérez D. y González S.R. 1980. Investigación de residuos de antibióticos en leche pasteurizada y envasada que se consume en el área metropolitana. *Sal. Púb. Méx.*, 22(1):91-99.
- Verbeke R. 1979. Sensitive multi-residues method for detection of slaughtered animals. *J. Chromatography.*, p. 177, 69.
- Vogt K. 1980. Vereingachtes Extraktions- und Reinigungs verfahren für die radio immunologische Bestimmugun Diäthylstilbüstrol in Fleisch Leber und Niere. *Archiv für Lebens mitttlehygiene.*, 31:117.
- Wal J.M., Peleran J.C. y Bories G.F. 1980. High performance liquid chromatographic determination of chloramphenicol in milk. *JAOAC.*, 63(5):1044-1048.
- Wallen V.R. 1955. Control of stem rust of wheat with antibiotics. I. Green house and field tests. *Plant Dis. Rep.*, 39(2):124-127.
- Weinstein L. 1954. The complications of antibiotic therapy *Bull N.Y. Acad. Med.*, 31:500-518.
- Weinstein L. y Kaplan K. 1970. The cephalosporins: micro-biological, chemical, and pharmacological properties and use in chemotherapy for infection. *An. Intern. Med.*, 72:729-739.
- Weiser H.H., Goldberg H.S., Cahill V.R., Kunkle L.E. y Deatherage F.E. 1953. Observations on fresh meat processed by the infusion of antibiotics. *Food Technol.*, 7(12):495-499.
- Weiser H.H., Kunkle L.E. y Deatherage F.E. 1954. The use of antibiotics in meat processing. *Appl. Microbiol.*, 2:88-94.
- West J.W. 1951. Antibiotics reduce protein requirements of broilers. *Farm. Res.*, 17:7.
- Wheaton E., Burroughs J.D. y Hays G.L. 1957. Flat sour spoilage of tomato juice and its control with subtilin. *Food Technol.*, 11:286-289.
- Wehaton E. y Hay L. 1964. Antibiotics and the control of spoilage in canned foods. *Food Technol.*, 18(4):549-551.
- WHO (World Health Organization). 1957. Meat Hygiene. *Monograph. Series No. 33:18-21.*, Geneve.

- WHO/FAO. Expert Committee on meat hygiene. 1962. Meat hygiene. 2th. Rep. WHO Tech. Rep. Ser. No. 241., Geneve.
- WHO. 1982-1984. International digest of health legislation. Vol. 33, No. 4, 1982:819. Vol. 34, No. 4, 1983:837. Vol. 35, No. 3, 1984:632. Vol. 35, No. 4, 1984: 794.
- Williams B.J. y Wornick R.C. 1971. Modification of the assay for neomycin in feeds. JAOAC., 54(1):121-124.
- Williams D.N., Laughlin L.W. y Lee Y.H. 1974. Minocycline: possible vestibular side-effects. Lancot., 2:744-746.
- Williams J.D. 1974. The sulphonamides. Br. J. Hosp. Med., 12:722-730.
- Wilson G.S. y Miles A.A. 1964. Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity. Vol. 1, p. 206, 209, 212. 5th Ed. Edward Arnold Publishers, LTD. England, London
- Winkler V.W. y Nyman M.A. 1977. Collaborative study of assay method for erythromycin in peleted feeds containing binding agents. JAOAC., 60(1):176-182.
- Winkler V.W., Nyman M.A. y Benjamin F. 1971. Extraction and microbiological assay of erythromycin in feeds. I. Development of the methods. JAOAC., 54(4):940-943.
- Wise R. 1975. The penicillins. Br. J. Hosp. Med., 14:404-410.
- Wright W.W. 1970. Detection of antibiotics in animal tissues. JAOAC., 53(2):219-223.
- Wright W.W. y Burton J.M. 1959. Report on zinc bacitracin in animal feeds. JAOAC., 42(2):258-260.
- Yalow R. y Berson S.J. 1960. Clin. Inv., 30:457. USA.
- Zaumeyer W.J. 1955. Antibiotics and plant health. J. Agr. Food Chem., 3(2):112-116.
- Zaumeyer W.J. 1957. Control of powdery mildew of beans with two antibiotics. Medical Encyclopedia., p. 123-127. New York, N.Y.
- Ziegler F. y Stadelman W.J. 1955. The effect of aureomycin treatment on the shelf life of fresh poultry meat. Food Technol., 9:107-108.