



UNIVERSIDAD DE CHILE



**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**“EVALUACIÓN DEL NÚMERO DE MUESTRAS OBTENIDAS EN LAS PLANTAS DE
PROCESO PARA EL PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE RESIDUOS DE
FÁRMACOS EN SALMONES DE EXPORTACIÓN ”**

JORGE PADILLA TRUJILLO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias Clínicas

PROFESOR GUÍA: Dra. Betty San Martín

**SANTIAGO, CHILE
2007**



UNIVERSIDAD DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**“EVALUACIÓN DEL NÚMERO DE MUESTRAS OBTENIDAS EN LAS PLANTAS DE
PROCESO PARA EL PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE RESIDUOS DE
FÁRMACOS EN SALMONES DE EXPORTACIÓN ”**

JORGE PADILLA TRUJILLO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias Clínicas

NOTA FINAL: _____

NOTA

FIRMA

PROFESOR GUÍA : Dra. Betty San Martin Nuñez _____

PROFESOR CONSEJERO : Dra. Daniela Iragüen Contreras _____

PROFESOR CONSEJERO : Dra. Ma. Angélica Morales Miranda _____

**SANTIAGO, CHILE
2007**

INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	2
1.- Residuos de fármacos y otros contaminantes y riesgos para la salud pública	2
1.1. Efectos de los antibióticos sobre la flora gastrointestinal.....	4
1.2. Funciones de la flora gastrointestinal que pueden ser afectadas por el consumo de antibióticos.....	4
1.3. Resistencia bacteriana	6
2.- Regulaciones para el uso de Fármacos en la Acuicultura	8
2.1. Unión Europea	8
2.2. Norteamérica (Estados Unidos y Canadá):	9
2.3. Noruega	10
2.4. Chile	11
3.- Situación del uso de antimicrobianos en la salmonicultura chilena	12
3.1. Principales antimicrobianos usados en la salmonicultura chilena:.....	12
3.2. Otros químicos de importancia para la salmonicultura chilena:	14
4.- Programas de control de residuos	15
4.1. Procedimientos de muestreos.....	16
4.2. Programas de control de residuos en Chile.....	19
5.- Especies incluidas en el estudio	<u>21</u>
OBJETIVO GENERAL	<u>25</u>
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	<u>25</u>
MATERIAL Y MÉTODO	<u>26</u>
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	<u>30</u>
GRÁFICOS Y TABLAS	<u>38</u>
CONCLUSIONES	<u>45</u>
BIBLIOGRAFÍA	<u>46</u>

ÍNDICE DE GRÁFICOS Y TABLAS

Tabla N° 1: Frecuencia y porcentaje de Unidades Muestrales positivas a residuos de fármacos y contaminantes, según año.	38
Gráfico 1: Kilogramos de antimicrobianos utilizados en la salmonicultura chilena entre los años 1999-2003.....	38
Gráfico N° 2: Kilogramos de antimicrobianos utilizados en la salmonicultura Noruega entre los años 1981-2005.	39
Gráfico N° 3: Porcentaje de Unidades Muestrales positivas a residuos de fármacos y contaminantes, según mes.....	40
Tabla N° 2: Frecuencia y porcentaje de Unidades Muestrales positivas a residuos de fármacos y contaminantes, según analito.	41
Tabla N°3: Fármacos registrados para uso en acuicultura y precios para la droga al 80% de principio activo.....	42
Tabla N° 4: Frecuencia y porcentaje de Unidades Muestrales positivas según el numero de muestras que superan los límites de detección, año 2006.	43
Tabla N° 5: Probabilidades de detección según el número de muestras analizadas.....	44
Tabla N° 6: Frecuencia y porcentaje de Unidades Muestrales falso negativos para los 3 fármacos más usados en salmonicultura chilena, año 2006.....	44

RESUMEN

El comercio internacional de productos de origen acuícola, es cada vez más exigente. En la actualidad, a las restricciones de tipo sanitario, deben agregarse aquellas relacionadas con la presencia de residuos químicos en estos productos.

Con el objeto de dar cumplimiento a estas exigencias de exportación, en el año 1997 en Chile se instaura el "Programa de Control de Residuos" en salmones de exportación a cargo del Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA), del Ministerio de Economía. El principal objetivo de este programa de control de residuos es evitar la presencia de Productos Farmacéuticos, Contaminantes y Sustancias Prohibidas en estos alimentos.

Uno de los puntos críticos de los Programas de Control de Residuos, es el procedimiento de muestreo, el cual está influenciado directamente por el número de muestras que deben ser obtenidas para cumplir con los objetivos planteados. Este último punto fue analizado en el presente estudio; además de ello, se determinó la frecuencia de detección de residuos según diferentes variables. Para ello, se analizaron los informes emitidos en los años 2004, 2005, 2006 por el Laboratorio de Farmacología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

En la evaluación de las Unidades Muestrales (UM) se demostró, que al analizar sólo un pescado de siete, la probabilidad de falsos negativos es de alrededor del 15%. Esto pone en evidencia la necesidad de aumentar el número de muestras analizadas por UM.

Además podemos señalar que anualmente existe un 3% de UM positivas a diferentes fármacos y contaminantes. Este valor es elevado si lo comparamos con Noruega, que en la actualidad es el primer productor mundial de salmones de cultivo y en

el cual no se han registrado en los últimos años muestras que presentan residuos de estos contaminantes.

En cuanto al comportamiento mensual, se encontró que en el período comprendido entre los meses de junio y septiembre se observan mayores porcentajes UM positivas; ello podría deberse a que los períodos de resguardo que se definen en el registro de fármacos, son iguales para todos los meses del año, siendo que ellos deberían ser determinados considerando fundamentalmente las variaciones estacionales de las temperaturas del agua.

Finalmente, se determinó que el analito con el mayor porcentaje de UM positivas es flumequina con un 7,1%; este coincide que, es el fármaco más comercializado en la salmonicultura chilena.

SUMMARY

International trade of sea products have become more demanding. Nowadays, beside sanitary restrictions, chemical residues in these products must be observed.

In order to fulfill these demands, in 1997 the "National Residues Control Plan" was founded in Chile. This program depends on "Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA)", of the "Ministerio de Economía". Its main objective is aimed to avoid the presence of Pharmaceutical, Pesticides Products and Forbidden Substances in sea products.

One critical stage of the National Residues Control Plan is the sampling procedure, which is directly influenced by the number of samples. In the present study, the sampling procedure, which is carried out in the Laboratory of Veterinary Pharmacology of the Universidad de Chile, was analyzed. In addition, the frequency of detection of residues was determined according to different variables. Reports issued by the Laboratory of Veterinary Pharmacology during the years 2004, 2005 and 2006 were studied.

When only 1 of 7 fishes of each sample were analyzed, a 15% false negative were determined, showing that the number of fishes of each sample should be increased.

In addition, there is a 3% of samples annually detected for different drugs and contaminants in Chile. Norway is the mayor producer of cultured salmon and samples with residues of contaminants have not been found in the last years.

When monthly behaviour of detected samples were analyzed, the higher percentage of detected samples were between june and september. This can be explained because current withdrawal times do not consider seasonal differences, such as water temperature.

Finally, flumequine was the most frequently analyte detected (7.1%). This agrees with the fact that it is the most marketed drug in the Chilean salmoniculture.

INTRODUCCIÓN

Uno de los sistemas productivos de gran importancia en Chile es la salmonicultura, presentando un explosivo crecimiento en estas últimas décadas. Ocupa los primeros lugares en cuanto a magnitud de exportaciones a países de la Unión Europea, Estados Unidos de Norteamérica y Japón, países que exigen altos estándares de calidad en sus alimentos. Chile, con el fin de dar cumplimiento a estas exigencias, en el año 1997 instaura el "Programa Nacional de Control de Residuos" en salmónes de exportación a cargo del Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA), del Ministerio de Economía. En este programa el Laboratorio de Farmacología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias cumple el rol de Laboratorio de Verificación.

Las verificaciones realizadas en el laboratorio están orientadas a detectar la presencia de residuos de productos farmacéuticos, sustancias no autorizadas y contaminantes ambientales como pesticidas y sustancias químicas tóxicas. Este programa de Control de Residuos cumple con el objetivo de evitar que carne de salmón contaminada con residuos de fármacos alcancen a los consumidores. En otras palabras, la ejecución del programa debe asegurar la entrega de un producto inocuo a la población o de lo contrario, podría haber consecuencias negativas para la salud.

El programa opera en base a varios procedimientos secuenciales como son el establecimiento de organismos reguladores, registros de medicamentos, elaboración de reglamentos y procedimientos orientados a asegurar la inocuidad de los productos finales destinados a la población humana. Para esto último, se obtienen muestras en etapa de producción (antes de la cosecha) y muestras en plantas de proceso; estas últimas son enviadas al Laboratorio de Verificación, punto que será analizado en esta memoria de título.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.- Residuos de fármacos y otros contaminantes y riesgos para la salud pública

Para adentrarse en este tema, es importante señalar que el término inocuidad alimentaria, hace referencia a todos los riesgos, sean crónicos o agudos, que pueden hacer que los alimentos sean nocivos para la salud del consumidor; la Organización Mundial de la Salud y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación señalan que la inocuidad alimentaria es un objetivo que no es negociable (FAO/OMS, 2003).

Las preocupaciones concretas sobre los riesgos para los consumidores se ha centrado en general en los siguientes ámbitos: presencia de residuos de plaguicidas, uso de aditivos y colorantes alimentarios, adulteración, presencia de contaminantes químicos como el mercurio y toxinas biológicas. Estos últimos años esta lista se ha ampliado incluyendo los organismos genéticamente modificados, alérgenos, residuos de medicamentos veterinarios y hormonas que promueven el crecimiento (FAO/OMS, 2003; FDA, 2000; SAG 2007a).

Todos los fármacos y contaminantes que pudieran estar presente en los alimentos de origen animal y vegetal, tienen la potencialidad de provocar reacciones adversas en la población cuando están en concentraciones sobre los límites permitidos.

Son muchos los fármacos que pueden desencadenar este tipo de reacciones. A modo de ejemplo, las penicilinas son reconocidos como fármacos que producen reacciones anafilácticas con mayor frecuencia (Rang *et al.*, 2000), existiendo numerosos reportes de dermatitis por consumo de leche con residuos de este antibiótico (Woodward, 2005a).

Otro tipo de reacciones adversas son las de tipo hematológica, provocando principalmente destrucción de células sanguíneas circulantes o de sus progenitores en la médula ósea. En estos casos, está involucrada la unión de un anticuerpo a un complejo fármaco-molécula de superficie celular, activando el complemento o detonando el ataque de linfocitos citotóxicos que determinan la lisis celular. Entre los fármacos a los cuales se les atribuye la capacidad de producir estas reacciones está el cloranfenicol el que produce la anemia aplásica (Rang *et al.*, 2000; FAO, 2002). Según el JECFA (Joint FAO/WHO Expert Comité on Food Additives), la incidencia de anemia aplásica es del orden de 1,5 casos por millón de personas al año; de este número sólo el 15% se atribuye a cloranfenicol usado en tratamientos terapéuticos, el restante porcentaje estaría dado por el consumo de esta droga como residuo en los alimentos (Hanekamp *et al.*, 2003).

A los efectos adversos ya nombrados, podemos agregar la hepatotoxicidad inducida por fármacos. Ella está modulada por factores terapéuticos, nutricionales o fisiológicos que interfieren con la eliminación, formación de metabolitos reactivos o con los procesos de detoxificación, con la consecuente acumulación de sus metabolitos. Son varios los fármacos involucrados en hepatotoxicidad, como por ejemplo las sulfonamidas (Twedt *et al.*, 1997). Otro fármaco que tiene efectos negativos sobre el hígado es la flumequina, quinolona utilizada en la salmonicultura chilena, que puede producir cambios degenerativos como hipertrofia, vacuolización grasa, necrosis focal e incremento de la actividad mitótica (WHO, 2004).

Actualmente, en salud pública se han sumado nuevos problemas relacionados con el uso de antibióticos y sus residuos en los alimentos, entre los que se señalan (Woodward, 2005b):

- perturbación de la ecología bacteriana del colon;

- debilitamiento del efecto barrera de la flora gastrointestinal permitiendo el ingreso y crecimiento de potenciales patógenos;
- resistencia bacteriana.

1.1. Efectos de los antibióticos sobre la flora gastrointestinal:

La mucosa del tracto gastrointestinal humano es una de las superficies más extensas del organismo (250 m²) y constituye la principal zona de contacto y defensa frente a agentes externos como bacterias, virus, toxinas y alérgenos. La flora o microbiota que la coloniza constituye un complejo ecosistema en constante balance (FDA, 2004; Guarner y Malagelada, 2003). El balance del ecosistema bacteriano intestinal puede ser destruido cuando se consumen dosis de antibióticos en terapias o como residuos en los alimentos (Cerniglia y Kotarski, 2005). Este cambio va a depender del espectro de acción, dosis y duración de la exposición al fármaco. Estudios realizados en ratas han demostrado que bajos niveles de antibiótico pueden provocar alteraciones en los diferentes parámetros y funciones de la flora intestinal, que dependerían del espectro de acción y concentración de la droga (FDA, 2004).

1.2. Funciones de la flora gastrointestinal que pueden ser afectadas por el consumo de antibióticos:

- Producción de ácidos grasos de cadena corta: Los componentes de la dieta que no son digeridos (oligosacáridos y polisacáridos) en la parte superior del tracto intestinal constituyen los principales nutrientes para la flora bacteriana que reside en la parte distal del intestino delgado y colon. Estas bacterias fermentan los desechos obteniendo energía para su supervivencia; como resultado de esta fermentación se obtienen ácidos grasos de

cadena corta que cumplen funciones muy importantes dentro de nuestro organismo. Entre ellos encontramos principalmente: ácido propiónico, butírico y acético, que constituyen entre el 83 y 95% del total. El ácido butírico es, en su mayor parte, metabolizado por el epitelio intestinal, aportándole entre un 60 y 70% de toda la energía necesaria para su funcionamiento. El ácido propiónico es transportado hasta el hígado, y el ácido acético pasa a la circulación periférica llegando al músculo esquelético y cardiaco (Sanz *et al.*, 2004).

- Efecto barrera: Las bacterias intestinales por acidificación del medio debido a la actividad fermentativa, inhiben el desarrollo y colonización de patógenos, así como la producción de elementos tóxicos derivados de su metabolismo (amonio, compuestos fenólicos, aminas, etc.) (Cerniglia y Kortarski, 2005). Por otro lado, el ácido butírico constituye la principal fuente de energía para los colonocitos, estimulando la proliferación celular y regulando la apoptosis y la composición del mucus. De este modo, contribuyen globalmente a estabilizar la función barrera del intestino (Sanz *et al.*, 2004; Guarner y Malagelada, 2003).
- Modificación del metabolismo del nitrógeno: La acidificación del medio, también favorece la protonación del amoníaco a ion amonio, limitando su difusión a la sangre y aumentando su excreción fecal, lo que finalmente, disminuye la uremia.
- Absorción de minerales: Los ácidos grasos de cadena corta, producidos por la flora intestinal, favorecen la absorción de minerales (calcio, magnesio y hierro) relevantes para la prevención y tratamiento de ciertas enfermedades como la osteoporosis y la anemia (Teitelbaum y Walker, 2002). Los efectos se producen como consecuencia de la reducción del pH luminal, que aumenta su solubilidad y favorece su absorción por difusión pasiva (Sanz *et al.*, 2004; Guarner y Malagelada, 2003).

- Metabolismo de lípidos y ácidos biliares: El ácido propiónico disminuye la expresión de enzimas lipogénicas en el hígado, implicadas en la síntesis de *ново* de triglicéridos y ácidos grasos, y reduce los niveles de colesterol. Por otro lado, la acidificación del medio intestinal inhibe la transformación de las sales biliares primarias en secundarias, que se consideran un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer del colon (Sanz *et al.*, 2004).

1.3. Resistencia bacteriana:

La resistencia bacteriana puede ser natural o adquirida. En el primer caso, es una propiedad de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos, como lo demuestra el aislamiento de bacterias resistentes, de una edad estimada de 2000 años, encontradas en las profundidades de los glaciares de las regiones árticas de Canadá (Fernández *et al.*, 2003). Por el contrario, la resistencia adquirida se produce a través de mutaciones (cambios en la secuencia de bases en el material genético) o por la transferencia de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias. En el primer caso, la resistencia se transmite de forma vertical de generación en generación. En el segundo, la transferencia de genes se realiza horizontalmente a través de plásmidos u otros materiales genéticos movibles como integrones y transposones; esto último no sólo permite la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas, Estos mecanismos de resistencia pueden manifestarse solos o en combinación (Taléns-Visconti *et al.*, 2002). Además existen evidencias epidemiológicas y moleculares, que señalan que los genes que median esta resistencia pueden ser transmitidos de bacterias del medio acuático a bacterias terrestres capaces de producir infecciones en humanos y en animales (Cabello, 2004). De esta forma, una bacteria puede adquirir la resistencia a uno

o varios antimicrobianos sin necesidad de haber estado en contacto con éstos (Fernández *et al.*, 2003).

Un caso especial de generación de resistencia bacteriana es el que se da en recintos acuícolas y sus jaulas ya que ellos están rodeados de diferentes especies de mariscos y peces. Algunas de estas especies se nutren del alimento no consumido por los peces cultivados y de las heces de estos mismos, las cuales se acumulan debajo de las jaulas (Fortt *et al.*, 2006). De esta forma, los peces silvestres pueden estar expuestos de manera involuntaria a los antimicrobianos y causar problemas en ellos.

Como ejemplo importante de generación de resistencia tenemos a las quinolonas, muy utilizadas en la salmonicultura chilena (Fortt *et al.*, 2006). En ellas se ha visto que los microorganismos han creado mecanismos en los cuales pueden alterar la permeabilidad disminuyendo la penetración intracelular del fármaco y actividad de transportadores activos endogénos que provocan la expulsión de los antimicrobianos desde la membrana celular al medio exterior (Taléns-Visconti *et al.*, 2002).

2.- Regulaciones para el uso de Fármacos en la Acuicultura

2.1. Unión Europea:

La definición de productos para la medicina veterinaria es amplia y en la práctica cubre a todos los productos que son usados en los animales para la salud e higiene. La mayoría de estos productos que han sido usados por décadas en la acuicultura, deben ser revisados al menos para evaluar los Límites Máximos de Residuos (LMR) establecidos en el reglamento del consejo EEC/2377/90; de tal forma de asegurar su inocuidad hacia el medio ambiente y hacia los consumidores. La definición de LMR en la Comunidad Europea es prácticamente la misma que la adoptada por la Comisión del *Codex Alimentarius* (CCA) para los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Los Anexos al Reglamento 2377/90 son los siguientes (FAO, 2002):

- Anexo I: Productos para los cuales pueden establecerse LMR completos
- Anexo II: Productos inocuos, no hace falta ningún LMR para proteger al consumidor.
- Anexo III: Productos para los cuales los datos son suficientes para establecer un LMR provisional, pero se necesitan más datos para asignar un LMR completo.
- Anexo IV: Productos que por motivos de inocuidad, no pueden establecerse ningún LMR. Las sustancias incluidas en este anexo están prohibidas para su empleo en especies de animales destinados a la alimentación humana, si bien pueden utilizarse en las especies de animales de compañía.

2.2. Norteamérica (Estados Unidos y Canadá):

El "Center for Veterinary Medicine" (CVM) de la "U.S Food and Drug Administration" (FDA), regula la manufactura, distribución y uso de fármacos para animales. El CVM, es el responsable de asegurar que los fármacos usados en los animales de producción sean seguros y efectivos y que los productos alimenticios derivados de los animales sometidos a tratamientos estén libres de residuos. El CVM, establece los límites de tolerancia y tiempos de carencia. El proceso de aprobación de fármacos por los Estados Unidos de Norteamérica es análogo al de Canadá. En Canadá, los antibióticos aprobados para la acuicultura son: oxitetraciclina, sulfadiazina, sulfadimetoxina y florfenicol. Los reglamentos no sólo aprueban los tipos de antibióticos que pueden emplearse, sino también suelen especificar las especies animales a las que se destinan, el diagnóstico, la dosis, la duración de la terapia y el período de resguardo que debe respetarse. El cumplimiento de estas condiciones asegura que los residuos en los productos se mantengan por debajo de los LMR y disminuye el riesgo de bacterias patógenas resistentes.

En los Estados Unidos de Norteamérica, se prohíbe el uso de varios medicamentos en animales destinados a la producción de alimentos. Los pertinentes para la acuicultura son: cloranfenicol, dimetridazol, furazolidona (excepto para uso tópico aprobado), nitrofurazona (excepto para uso tópico aprobado) y fluoroquinolonas (FAO, 2002).

2.3. Noruega:

La industria del salmón es muy importante en la economía Noruega, por lo que requiere de la total confianza de los países importadores, teniendo la seguridad alimentaria una alta prioridad. Para el monitoreo de los residuos de productos veterinarios en la carne, se ha establecido un control que se basa en los siguientes puntos (Grave, 2006):

- Cada fármaco tiene un período de resguardo establecido.
- Los fármacos usados en la acuicultura corresponden solamente a los fármacos suministrados bajo prescripción.
- Cada médico veterinario debe, en el transcurso de una semana, enviar una copia de la prescripción a la autoridad a cargo del control.
- Las autoridades encargadas del control de los alimentos incorporan la información a la base de datos, lo que entrega una completa visión de cada fármaco usado por cada centro de cultivos.
- Si existen evidencias de que el fármaco ha sido utilizado en el centro de cultivo en un período cercano de la cosecha, se deben tomar muestras una semana previo a la cosecha y ser analizadas de tal forma de controlar la presencia de residuos.
- El período de resguardo debe ser cumplido. Las muestras examinadas previo a la cosecha no deben contener residuos sobre los LMR antes de que se otorgue la licencia para proceder con la cosecha.
- La autoridad también toma muestras al azar de peces, desde las plantas de proceso, de acuerdo a los delineamientos de la UE.

2.4. Chile:

Es el único país en Sudamérica que ha desarrollado regulaciones tendientes a reglamentar el uso de fármacos y productos químicos para la acuicultura. Entre los reglamentos desarrollados para este propósito se cuenta con los siguientes (SERNAPESCA, 2006a):

- Decreto N° 319. Reglamento de Protección, Control y Erradicación de Enfermedades de Alto Riesgo para las Especies Hidrobiológicas. Promulgado el 24 de Agosto del 2001.
- Decreto N° 320. Reglamento Ambiental para la Acuicultura. Promulgado el 14 de Diciembre del 2001.
- Decreto N° 139 del Ministerio de Agricultura. Reglamento de Productos Farmacéuticos de Uso exclusivamente Veterinario. Promulgado el 7 de Junio de 1995.
- Resolución 724 del Ministerio de Economía, por la cual se aprueba el Convenio de Cooperación Interinstitucional entre el SAG y SERNAPESCA, en el ámbito de los Productos Farmacéuticos de uso Exclusivamente Veterinario de uso Acuícola. Promulgado el 1º de Diciembre de 1997.

Los antimicrobianos usados para el control de las enfermedades en la acuicultura nacional, principalmente en la industria del salmón, son los mismos usados en los otros países en donde el cultivo del salmón es una actividad económica importante. Las restricciones de utilización están relacionadas con los LMR establecidos para cada uno de los fármacos. No obstante lo anterior, los productores de especies acuícolas destinadas a exportación, han debido siempre respetar y acatar las restricciones impuestas por los países importadores en relación al tipo de fármacos permitidos para uso en la acuicultura, los períodos de resguardo y los límites máximos residuales.

En el Manual de Procedimientos del Programa de Control de Fármacos y Contaminantes, elaborado por SERNAPESCA, se incluyen aspectos relativos al uso y control de residuos de Productos Farmacéuticos en la acuicultura, así como el control de residuos de Contaminantes y Sustancias Prohibidas (Bravo *et al.*, 2005).

3.- Situación del uso de antimicrobianos en la salmonicultura chilena

El uso de fármacos por parte de la industria acuícola es un tema de preocupación para la mayoría de los países. Sin embargo, a la fecha, Noruega es el único país que mantiene desde principios de los años ochentas registros estadísticos anuales sobre el consumo de fármacos por parte de la industria del salmón (Grave, 2006). Por el contrario, Chile, no cuenta con información oficial acerca de los volúmenes de antimicrobianos utilizados por la acuicultura nacional. Por otro lado, de acuerdo a la regulación actual, los fármacos utilizados por la industria del salmón a nivel nacional deben ser prescritos por un médico veterinario, el cual a través de receta veterinaria realiza el pedido del medicamento. La receta veterinaria es almacenada por la planta de alimento, sin que exista obligación de remitir copia de esta prescripción a la autoridad oficial. Al no existir información oficial, solamente se tienen datos estimados, formulados por algunos de los actores de la industria (laboratorios farmacéuticos); se ha señalado que en el año 2003 los niveles de antibióticos usados por la industria del salmón fue del orden de las 130 toneladas de droga pura (Bravo *et al.*, 2005).

3.1. Principales antimicrobianos usados en la salmonicultura chilena:

- Oxitetraciclina: Grupo farmacológico de las tetraciclinas, cuyo mecanismo de acción es inhibir la síntesis de las proteínas bacterianas por fijarse a la subunidad 30s del ribosoma. La oxitetraciclina es usada para el tratamiento del Síndrome Rickettsial del Salmón (SRS) y

Enfermedad Bacteriana del Riñón (BKD), en dosis de 100 a 120 mg/kg de biomasa por 14 a 21 días, vía oral (INTESAL, 2004).

- Ácido oxolínico: Perteneciente al grupo de las quinolonas, cuyo blanco farmacológico principal es la enzima bacteriana DNA girasa, La DNA girasa es una enzima esencial, responsable en parte, de la mantención de la topología del DNA dentro de la célula bacteriana. Las quinolonas inhiben la actividad de la DNA girasa en las bacterias. El ácido oxolínico tiene actividad antibacteriana especialmente contra bacterias gram negativas (Bravo *et al.*, 2005). Es usado para el tratamiento del Síndrome Rickettsial del Salmón (SRS), Vibrosis y Furunculosis, en dosis de 20-30 mg/kg de biomasa por 15 días, vía oral (INTESAL, 2004).

- Flumequina: Fluoroquinolona de primera generación cuyo sitio de acción es la enzima bacteriana DNA girasa. Es usada para el tratamiento de Síndrome Rickettsial del Salmón (SRS), Vibrosis y Furunculosis. Las dosis utilizadas son de 20 mg/kg de biomasa por 14 días, vía oral (INTESAL, 2004).

- Florfenicol: derivado del cloranfenicol. Tiene un rango de actividad similar al del cloranfenicol, que incluye muchos microorganismos gram positivos y gram negativos. Sin embargo, el florfenicol no lleva el riesgo de inducir anemia aplástica en humanos, que si es asociado con el cloranfenicol. Su sitio de acción es la subunidad ribosomal mayor (50s) y su mecanismo de acción es la inhibición de la actividad catalítica de peptidil transferasa, con ello no se forma el enlace peptídico y en consecuencia se interrumpe la síntesis de proteínas. La consecuencia para la bacteria sensible es la inhibición de su multiplicación, por lo que el efecto es bacteriostático (INTESAL, 2004).

3.2. Otros químicos de importancia para la salmonicultura chilena:

- Emamectina: Antiparasitario que pertenece al grupo de las avermectinas. Actúa interrumpiendo la transmisión de señales en el sistema nervioso. Estas moléculas interactúan con distintos canales de cloruro ligando-dependientes, como por ejemplo glutamato y GABA, los cuales aumentan la permeabilidad a cloruro hacia el interior de la célula, resultando en una disfunción del sistema nervioso. La emamectina es activa contra los estados pre adulto, y adulto de las especies crustáceos *Caligus elongatus* y *Lepeophtheirus salmonis*. Se emplea a través del alimento a una dosis de 0.05 mg/kg de pez por día por 7 días consecutivos, logrando efectos protectivos y terapéuticos de hasta 2 meses (INTESAL, 2004).
- Bronopol: Fungicida del tipo propanodiol, que contiene un grupo nitro y un bromo en su estructura. El bronopol es activo contra bacterias gram positivas y gram negativas, incluyendo *Pseudomonas aeruginosa*. En acuicultura tiene particular efectividad contra la infección fúngica de *Saprolegnia* spp de huevos de salmón y en varios estadios de desarrollo del pez (INTESAL, 2004).
- Diclorvos: Pesticida que pertenece a los organofosforados, es activo contra el piojo de mar (*L. salmonis* y *C. elongatus*). Se administra por baños en concentración de 1 ppm (INTESAL, 2004).

4.- Programas de control de residuos

Debido a la magnitud de los niveles productivos y las divisas que la salmonicultura ingresa al país, segunda después del cobre con 2.206 millones de dólares en exportaciones para el año 2006 (AQUA, 2007), resulta de suma importancia mantener el estado sanitario del producto, de manera de cumplir con los altos requerimientos en cuanto a calidad microbiológica y de residuos químicos que los países importadores exigen mediante normativas establecidas (FAO, 1999). Este control es ejecutado mediante los Programas de Control de Residuos, orientados a asegurar la entrega de productos inocuos a la población.

Para establecer un programa de control de residuos eficaz, primero se debe contar con un sistema global que esté en manos de una organización con experiencia técnica y autoridad que además sea independiente de intereses comerciales y económicos. Esta organización, estará a cargo de ejecutar los programas para la detección de sustancias en los alimentos de origen animal (Kaferstein y Abdussalam, 1999). En el caso de la salmonicultura nacional, esta función está delegada en el Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA), al que le compete velar por la calidad sanitaria de los productos acuícolas destinados a mercados internacionales (SERNAPESCA, 2006a). Además deben existir los reglamentos necesarios relativos a la distribución de medicamentos veterinarios y su registro. En Chile, el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) es el encargado de esta función quien, en el marco de un convenio interinstitucional suscrito con SERNAPESCA, es el encargado de autorizar el registro y elaborar procedimientos para determinar la inocuidad y eficacia de los medicamentos veterinarios de uso exclusivo en animales acuáticos, previa opinión técnica de SERNAPESCA (SERNAPESCA, 2006b).

El siguiente paso en la elaboración de Programas de Control de Residuos es el procedimiento de obtención de muestras, con el fin de detectar residuos de medicamentos específicos que susciten mayor preocupación para la salud. Por otro lado, los métodos de análisis que habrán de utilizarse en laboratorios deben estar bajo los estándares internacionales y además estar debidamente acreditados, de manera de permitir que los países participen en los programas de inocuidad de los alimentos de origen animal para productos de exportación.

Al respecto, la Organización Mundial de Comercio (OMC) señala que además del beneficio de disponer de un programa eficaz de control de residuos para la población nacional, un país que cuente con tales programas podrá participar con mayor confianza en la comunidad de naciones que comercian con alimentos (OMC, 1994).

4.1. Procedimientos de muestreos

Dos de los puntos críticos de los Programas de Control de Residuos, es el muestreo antes de la cosecha y el muestreo realizado en las plantas de proceso para el análisis en el Laboratorio de Verificación. En ambos casos, el muestreo debe ser representativo, esto se logra obteniendo un número determinado de unidades por tonelada de producción. En ambos casos el muestreo es insesgado, es decir, tiene como objetivo determinar la frecuencia de los casos de productos contaminados entre los que son objeto de inspección.

Como en esta materia entran en juego la probabilidad y el azar, la adopción de decisiones llevará consigo ciertos riesgos, pudiendo aceptarse como parte integrante de todo procedimiento de muestreo (FAO/OMS, 1995).

Al establecer un protocolo de muestreo, es importante distinguir entre el concepto de "muestreo estadístico insesgado", en el que se obtienen muestras de los animales sometidos a la inspección y las sustancias a muestrear son seleccionados estadísticamente a través de perfiles de riesgo (teniendo en cuenta la toxicidad de los residuos y su frecuencia de empleo), y el de "muestreo sesgado o dirigido", en el que se obtienen muestras de productos alimenticios sospechosos de contener concentraciones de residuos superiores a los límites máximos establecidos para estos (FAO/OMS, 1995).

El propósito del muestreo estadístico insesgado, es determinar la frecuencia de los casos de productos contaminados y facilitar la entrega de información esquemática de carácter nacional y anual, sobre la presencia de residuos en poblaciones específicas destinadas a la producción de alimentos. La información, se obtiene mediante una selección basada en la recolección de muestras aleatorias, provenientes de los animales sometidos a inspección. Se puede realizar un muestreo en una zona geográfica o limitada a donde surja un problema localizado en relación con posibles residuos de medicamentos. La información obtenida a partir de este tipo de muestreo, debe ser revisada periódicamente para evaluar los programas de control de residuos y asignar recursos de acuerdo con las necesidades específicas (FAO/OMS, 1995).

Además de la información esquemática, los datos sobre residuos sirven de base para adoptar medidas regulatorias posteriores. En particular, los resultados se pueden utilizar para identificar a los productores que comercializan productos de origen animal que tengan concentraciones de residuos superiores a los límites establecidos.

Otras de las finalidades a que se destinan los datos obtenidos en un muestreo insesgado son evaluar tendencias en la detección de residuos durante un conjunto de años y determinar sectores de la industria donde se presentan más problemas.

Además, los resultados del muestreo estadístico insesgado, pueden utilizarse para certificar que los productos alimenticios exportados se ajustan a los Límites Máximos Residuales de Medicamentos Veterinarios (LMRMV) definidos por organismos nacionales o internacionales como FAO/OMS.

El muestreo insesgado deberá tener una finalidad estadística específica. Esta finalidad puede expresarse en un nivel de confianza y una tasa de frecuencia. Por ejemplo, el muestreo puede estar destinado a detectar con un 95% de certeza, la frecuencia de animales con concentraciones sobre los LMRMV en un 1% de animales sanos sometidos a inspección. Una vez establecido el nivel de confianza y la tasa de frecuencia, el número de muestras necesario para conseguir el objetivo deseado se puede determinar a partir de las cifras indicadas en el siguiente cuadro.

Frecuencia (%) de los casos de niveles superiores a los establecidos con un nivel en una población	Número mínimo de muestras necesarias para detectar un caso de niveles superiores a los establecidos con un nivel de confianza de:		
	90 %	95 %	99 %
35	6	7	11
30	7	9	13
25	9	11	17
20	11	14	21
15	15	19	29
10	22	29	44
5	45	59	90
1	230	299	459
0,5	460	598	919
0,1	2 302	2 995	4 603

Fuente: FAO/OMS, 1995

4.2. Programas de control de residuos en Chile

Los Programas de Control de Residuos se inician en Chile el año 1987 en carnes de la especie ovina, en el año 1998 se implementa en carnes de aves, cerdo, liebres y miel, durante el año 2000 se establece en carnes de pavos. A mediados del año 2002 se incluyeron en el programa las carnes de bovinos y durante el 2005 los productos lácteos, todos ellos están a cargo del Servicio Agrícola y Ganadero.

Estos sistemas complementan otros Programas realizados en el área de inocuidad de alimentos dentro del Servicio Agrícola y Ganadero; como son Planteles Bajo Certificación Oficial (PABCO) y Sistema de Aseguramiento de Calidad (SAG, 2007a).

En el caso de los productos de la salmonicultura, en el año 1997 se instaura el "Programa Nacional de Control de Residuos" en salmónes de exportación a cargo del Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA), del Ministerio de Economía. El principal objetivo de este programa de control de residuos es evitar la presencia de productos farmacéuticos, Contaminantes y Sustancias Prohibidas en los alimentos de origen acuícola. Asimismo, establecer el control de uso al que se someterán todos los centros de cultivo de salmónidos respecto de la sustancia no autorizada Verde de Malaquita (VM) y su metabolito Leuco Verde de Malaquita (LVM), con el propósito de garantizar la inocuidad de los productos. Esto es realizado por el Laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

Por otro lado, todos los centros de cultivo que cosechen peces destinados al consumo humano deben participar del Programa de Control de Residuos. El incumplimiento de alguno de los procedimientos establecidos en el Programa de Control de Residuos para salmónes de exportación podrá determinar la eliminación del centro de

cultivo. Dicha condición implica que el centro no podrá cosechar peces destinados a la exportación (SERNAPESCA, 2006a).

Las verificaciones realizadas por el laboratorio de Farmacología Veterinaria de la Universidad de Chile están orientadas a detectar la presencia de residuos de:

- Productos farmacéuticos: Toda sustancia natural o sintética o mezcla de ellas que, presentada bajo una forma farmacéutica determinada, está destinada a la prevención, diagnóstico, curación, tratamiento y atenuación de las enfermedades de los animales o sus síntomas. Se incluyen en este concepto los productos destinados a medicar los alimentos, a estimular el desarrollo de los animales, los destinados al embellecimiento de los mismos, los desinfectantes de uso ambiental o de equipos y todo otro producto que utilizado en los animales o su hábitat, protege, restaura o modifica sus funciones orgánicas o fisiológicas.
- Sustancias no autorizadas: Corresponde a aquellos productos o sustancias cuyo uso no está registrado ni autorizado por la autoridad competente en actividades de acuicultura, existiendo mecanismos de control asociados tendientes a garantizar su ausencia y la de sus residuos en el producto terminado.
- Contaminante: Sustancia proveniente de la actividad industrial en general, pesticidas y elementos tóxicos u otras sustancias químicas contenidas en las aguas donde los peces son mantenidos y que pueden acumularse en la carne de éstos, en niveles que pueden causar daño al consumidor (SERNAPESCA, 2006a).

Las muestras de verificación son obtenidas al ingreso de la materia prima a planta de proceso. El muestreo es realizado sin previo aviso, y tomando los resguardos necesarios para asegurar la trazabilidad de las muestras. Las muestras extraídas corresponden a músculo con piel en proporciones naturales de producto fresco.

5.- Especies incluidas en el estudio

- Salmón del Atlántico o Salar (*Salmo salar*): Esta especie se encuentra en forma silvestre en las frías aguas del hemisferio norte, que van desde la zona cercana al Polo Norte en la que se ubica Groenlandia, Islandia y Noruega hasta el mar Cantábrico. Esta especie es capaz de vivir tres o cuatro procesos reproductivos. Su longitud promedio es de 45 cm y su peso promedio es de 7 kg al momento de su cosecha. Es de un color pardo, verde o azul en el dorso. Los lugares de cultivo se distribuyen desde la octava a la décima región, y la engorda se da principalmente en la décima región. Esta especie cultivada tiene la ventaja de estar disponible fresco prácticamente todo el año. Su principal mercado de destino es Estados Unidos de Norteamérica, Latinoamérica, Japón y Europa (Salgado, 2005). Es la especie más producida y exportada con 213.000 toneladas en el año 2006 y un valor promedio de 6,6 (US\$/kg FOB) generando retornos por 1.417 millones de dólares (Aqua, 2007).

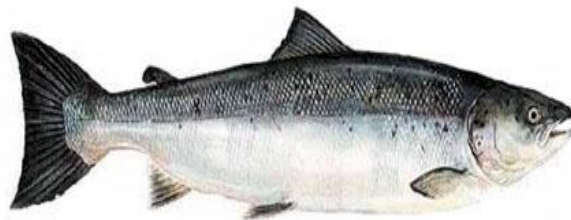


Figura 1: Salmón Atlántico o Salar

- Salmón Coho o del Pacífico (*Oncorhynchus kisutch*): Esta especie es originaria de las costas del Océano Pacífico, introducida en Chile a principios del siglo XX. Tiene en promedio 45 cm. de longitud, llegando a un peso promedio de 3 kg al momento de su cosecha. Su color es verde o azul en el dorso. Las principales áreas de cultivo están entre la octava y la doceava región, y la de engorda en la décima región. La temporada de

cosecha del Salmón Coho es muy corta, habitualmente va de dos a tres meses, abarcando los meses de noviembre a diciembre. Esta especie se distingue a la del Atlántico en que son semélparos, es decir, que mueren después de reproducirse. Los principales mercados de destino de esta especie son Japón y Estados Unidos de Norteamérica (Salgado, 2005). Es la tercera especie en importancia según nivel productivo y exportaciones. Para el año 2006 se exportaron 79.000 toneladas con un valor promedio de 3,8 (US\$/kg FOB) generando retornos por 298 millones de dólares (Aqua, 2007).

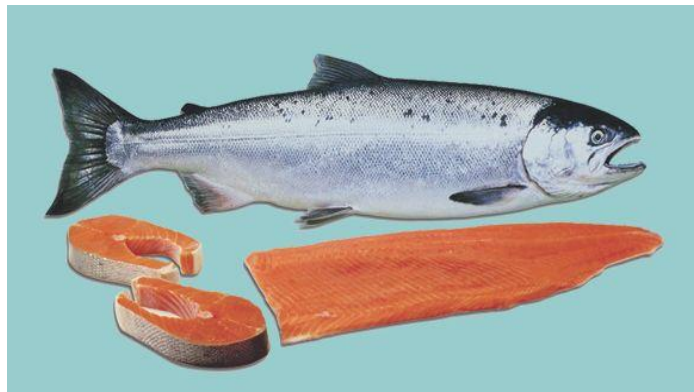


Figura 2: Salmón Coho o del Pacífico

- Trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*): Pertenece a la familia *Salmonidae* y es originaria del Pacífico Norteamericano. La parte superior de su cuerpo es de color verde brillante a café y su parte inferior es plateada. A lo largo de su flanco se dibuja una franja rojo-violáceo, iridiscente, característica de esta especie. La cabeza, el opérculo, el cuerpo y las aletas dorsales, caudal y anal, están densamente cubiertas de pequeñas manchas negras. Las principales áreas de cultivo están entre la VIII y la XII región, y la de engorda en la X región. Sus principales mercados de destino se encuentran en Europa (Salgado, 2005) segunda especie en importancia según nivel productivo y exportaciones, para el período 2006 se exportaron 93.000 toneladas con un valor promedio de 5,2 (US\$/kg FOB) generando retornos por 481 millones de dólares (Aqua, 2007).



Figura 3: Trucha Arcoiris

- Turbot (*Scophthalmus maximus*): El turbot es un pez plano que puede crecer hasta una talla de 1,0 m de longitud y tener más de 20 kg de peso. Tiene el cuerpo asimétrico, romboide, donde el flanco derecho es plano y el izquierdo, convexo. La cara dorsal está provista de tubérculos óseos y carece de escamas. Los centros de cultivo están localizados principalmente en la cuarta región. En el año 2006 se exportaron alrededor de 200 toneladas de peces con un valor promedio de 11.9 (US\$/kg FOB), generando retornos por 2,4 millones de dólares (Aqua, 2007).



Figura 4: Turbot

Por todo lo anteriormente expuesto, resulta de suma importancia mantener Programas de Control de Residuos eficaces, con el fin de proteger la salud pública y el patrimonio exportador que la salmonicultura chilena ha logrado en el último tiempo, llegando el año 2006 a exportaciones cercanas a los 2.200 millones de dólares.

Debido a esto es que resulta muy importante, hacer una evaluación periódica de los Programas de Control de Residuos en cuanto a resultados obtenidos y en cada una de sus etapas. Como ya sabemos, una de las etapas más conflictivas es el procedimiento de muestreo, el cual está influenciado directamente por el número de muestras que deben ser obtenidas para cada analito considerado dentro del programa, este punto será analizado en el presente trabajo junto a la determinación de las frecuencias de detección de residuos de fármacos y contaminantes.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar si el número de muestras obtenidas en las Plantas de Proceso para el Programa Nacional de Control de Residuos de Fármacos en salmones de exportación cumple con los objetivos propuestos a nivel nacional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la frecuencia de Unidades Muestrales positivas a residuos de fármacos y contaminantes según año, mes y analito.
2. Determinar en las Unidades Muestrales que resulten positivas a los fármacos de mayor uso, cuantas muestras (pescados) presentan concentraciones sobre los límites de detección.
3. Determinar la probabilidad de entregar resultados falsos negativos para los fármacos de mayor uso.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizaron los informes correspondientes al Programa Nacional de Control de Residuos de SERNAPESCA, emitidos por el Laboratorio de Farmacología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. El estudio incluyó los siguientes períodos:

- 1º de enero al 31 de diciembre del año 2004.
- 1º de enero al 31 de diciembre del año 2005.
- 1º de enero al 31 de diciembre del año 2006.

Unidad Muestral:

Cada informe fue considerado como la Unidad Muestral (UM). Cada UM está constituida por 7 pescados (muestras) que provienen de una misma jaula, por lo que se asume que todas las muestras fueron sometidas a los mismos tratamientos y a las mismas condiciones de crianza y poseen por lo tanto la misma probabilidad de estar contaminados (en la Figura N°5 se muestra el esquema de una UM). A cada muestra que compone la UM, le es asignado aleatoriamente la determinación de un analito distinto (entendiendo por analito al fármaco o contaminante en estudio). Cuando el pescado analizado es negativo, la UM se informa como No Detectado (ND) a ese analito, en cambio, cuando es positivo se informa como Detectado (D) y se realiza el análisis a los 7 pescados, informándose la concentración de cada uno de ellos.

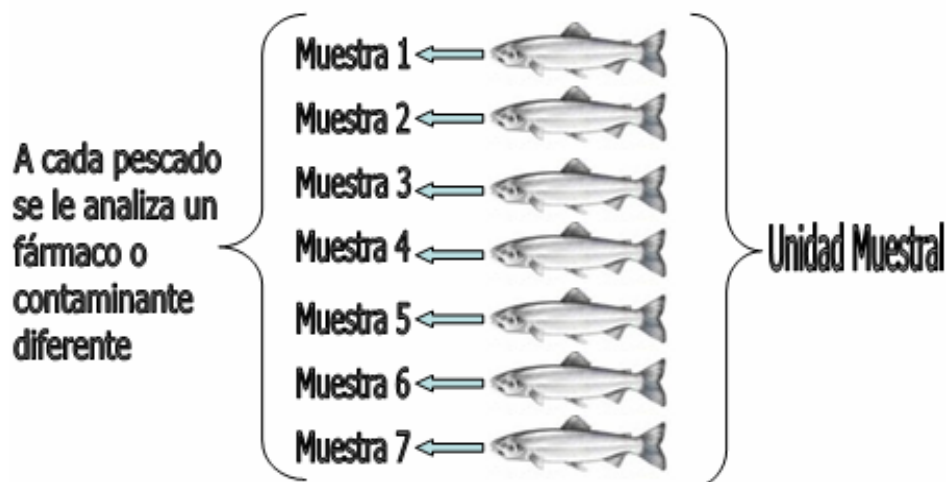


Figura N° 5: Esquema de la Unidad Muestral y sus muestras

1.- Determinación de la frecuencia de Unidades Muestrales positivas a residuos de fármacos y contaminantes según año, mes y analito.

Para cumplir con este objetivo, se creó una base de datos con la información de cada Unidad Muestral (UM) correspondiente al año de análisis, mes y analito. Toda la información fue procesada utilizando una planilla de cálculo Excel.

Los analitos estudiados fueron: enrofloxacino, ciprofloxacino, ácido oxolínico, flumequina, eritromicina, oxitetraciclina, ivermectina, florfenicol, sulfonamidas, cloranfenicol, benzoato de emamectina, metil mercurio, organoclorados, diclorvos, diquat, bifenilos policlorados, verde de malaquita, amoxicilina, aflatoxinas. De los cuales son analizados mensualmente 7 de ellos de acuerdo a un programa establecido por SERNAPESACA.

Con la información obtenida se construyó una distribución de frecuencias relativas con el número y porcentaje de UM positivas para cada año (2004, 2005, 2006), mes y analito. Para ello se utilizaron tablas dinámicas y gráficos del procesador de datos Excel.

2.- Determinación, en las Unidades Muestrales que resulten positivas a los fármacos de mayor uso, cuantas muestras (pescados) presentan concentraciones sobre los límites de detección.

En base a que la literatura informa que ácido oxolínico, flumequina y oxitetraciclina son los fármacos más utilizados en acuicultura, las UM positivas a 1 o más de estos analitos para el año 2006 fueron estudiadas para determinar el número de muestras que presentan concentraciones sobre el límite de detección en cada una de ellas. Debemos señalar que cuando una UM es encontrada positiva al análisis de rutina (análisis de un analito distinto para cada pescado), se realiza un segundo análisis, pero esta vez a los 7 pescados para el analito detectado. Con esto podemos saber cuantas muestras superan el límite de detección dentro de cada UM.

Con esta información se construyó una distribución de probabilidades para variable discreta con el número de muestras que superan el límite de detección dentro de cada UM positiva para el año 2006. Este tipo de distribuciones de probabilidades es utilizado para especificar todos los valores posibles de una variable aleatoria discreta junto con sus probabilidades respectivas, y es representada por una tabla.

3.- Determinar la probabilidad de entregar resultados falsos negativos para los fármacos de mayor uso.

Para este objetivo, durante el año 2006, se tomaron al azar 2 Unidades Muestrales (UM) por semana que hayan resultado negativas a los análisis de oxitetraciclina, ácido oxolínico y flumequina. En ellas se realizaron nuevamente los análisis cromatográficos para los fármacos señalados, pero esta vez en los 7 pescados que componen la UM. Las UM

que se encontraron detectadas, reciben el nombre de falsos negativos, ya que fueron informadas como no detectadas a los análisis de rutina del laboratorio.

Con la información obtenida se construyó una distribución de frecuencia con el número y porcentaje de UM que se encontraron falsos negativos para los fármacos de mayor uso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.- Determinación de la frecuencia de Unidades Muestrales positivas a residuos de fármacos y contaminantes según año, mes y analito.

En la Tabla Nº 1 se señalan las frecuencias y porcentajes de Unidades Muestrales (UM) positivas a residuos de fármacos y contaminantes para los analitos incluidos en el Programa de Control de Residuos para salmones de exportación, podemos observar que durante los años 2004, 2005 y 2006 fueron analizadas un total de 10.601 muestras de las cuales 317 resultaron con concentraciones sobre los límites de detección lo que corresponde a un 3%. De acuerdo a los resultados por año, se pudo ver que en el 2006 se obtuvo el mayor porcentaje de UM positivas, con un 3,79%. En el año 2005 se obtuvo un 1,98%, siendo éste el menor valor porcentual de los 3 períodos estudiados. El año 2004 se ubica en el segundo lugar en cuanto a porcentaje de detecciones con un 3,25%.

En relación a estos resultados, debemos señalar que existe escasa información publicada sobre el porcentaje de detección de residuos de fármacos en la industria salmonera. Sólo se encontraron datos correspondientes a Noruega, que en la actualidad es el mayor productor mundial de salmones de cultivo, no registrándose en los últimos años muestras que presenten residuos sobre los límites de detección establecidos (Grave, 2006). En cambio Chile, según los resultados de este estudio, presentó alrededor de un 3% de detección.

Esto podría deberse a que a nivel nacional, a diferencia de lo que ocurre en Noruega, las principales patologías que afectan a salmónidos son causadas por bacterias intracelulares, para los cuales aún no han sido desarrolladas vacunas que aseguren una completa efectividad en la prevención de estas enfermedades, lo que obliga a utilizar antimicrobianos. Esto se puede evidenciar en la gran cantidad de estos fármacos que se

utilizan en la industria salmonera chilena. Así por ejemplo según Bravo *et al.* (2005), señalaron que en el año 2003 se utilizaron 134.163 kg de antibióticos (Gráfico N° 1). Esta cifra es sustancialmente más alta que los 1.159 kg utilizados por la industria salmonera Noruega para ese mismo año (Gráfico N° 2).

Por otro lado, podemos ver que la utilización de antibióticos en Chile (Gráfico N° 1) ha tenido un importante incremento desde el año 1999, que es cuando se presenta el primer registro, con aproximadamente 60.000 kg. Cuatro años después, esta cifra aumentó a más del doble, alcanzando los 134.000 kg con un escaso control en su utilización.

A diferencia de lo que ocurre en Chile, en la industria salmonera Noruega desde principios de los años noventa a la fecha, ha mostrado un claro descenso en el uso de antimicrobianos (Gráfico N° 2) pasando de utilizar 50.000 Kg de fármacos el año 1987 a aproximadamente 1.000 kg en el 2005. La razón de este importante descenso fue el establecimiento de una nueva estrategia de control de las enfermedades basada en la utilización de vacunas (Grave *et al.*, 1999).

En cuanto a las drogas utilizadas podemos visualizar que en ambos países los fármacos más usados pertenecen al grupo de las quinolonas (ácido oxolínico y flumequina). En Chile también se observa una importante utilización de oxitetraciclina, droga que en Noruega disminuyó en forma considerable su utilización desde el año 1994.

En el Gráfico N° 3 se presenta el porcentaje de UM de salmón y turbot positivas a residuos de fármacos y contaminantes según mes. Analizando estos datos nos podemos dar cuenta que la mayor frecuencia de UM positivas se encontraron en el período comprendido entre los meses de junio y septiembre, correspondiendo a la estación invernal. Dentro del año, el mayor porcentaje de UM positivas fue para el mes de agosto

con un 5,63%, por el contrario, el menor porcentaje fue en el mes de diciembre con un 1,07%.

Este comportamiento estacional podría atribuirse a las fluctuaciones estacionales de las temperaturas de las aguas dentro del año en la zona sur de Chile. Al respecto, datos entregados por la Asociación de Productores de Salmón y Trucha de Chile, en el Estuario de Reloncaví (Región de los Lagos), señalan que las temperaturas fluctúan entre una mínima de 7°C en invierno a una máxima de 17°C en primavera. En Chiloé Sur (Región de los Lagos) estos valores se encuentran entre 7°C a 15°C.

Estas fluctuaciones térmicas influyen en la farmacocinética de los fármacos, debido a que los peces son organismos poiquilotérmicos, variando la velocidad de los procesos de absorción, biotransformación y eliminación según la temperatura del medio externo. Así por ejemplo, se sabe que las quinolonas (ácido oxolínico y flumequina) a temperaturas mayores a 12°C son rápidamente absorbidas y luego eliminadas por el organismo; por el contrario, a temperaturas menores a 10°C, estas drogas son lentamente absorbidas y eliminadas por el organismo determinando períodos de eliminación mayores. Este concepto también es válido para las sulfas, oxitetraciclina y en general para todas las drogas administradas en los organismos acuáticos (Lucchetti *et al.*, 2004).

Por lo anterior, es importante relacionar las variaciones en la tº ambiental con los períodos de resguardo. Se entiende por período de resguardo al tiempo que debe transcurrir entre la última administración de un medicamento veterinario y la recolección de tejidos comestibles o productos de un animal tratado, que asegura que el contenido de residuos en los alimentos se ajusta al límite máximo de residuos para los medicamentos veterinarios (FAO/OMS, 1995).

En Chile, los períodos de resguardo señalados en el Registro de Fármacos autorizados para acuicultura, son iguales para todos los meses del año independiente de la temperatura estacional. Así por ejemplo, para el ácido oxolínico, flumequina y oxitetraciclina los períodos de resguardo son de 45 días (SAG, 2007b). Esto podría explicar el hecho que los peces procesados en junio, julio, agosto y septiembre presenten un mayor porcentaje de UM detectadas, ya que en estos meses es muy probable que los períodos de resguardo sean más prolongados que los previamente establecidos.

En países como Noruega, los períodos de resguardo se determinan a diferentes temperaturas ambientales; en general éstos son menores a 45 días a temperaturas sobre 10°C y mayores a 45 días a temperaturas superiores a 10°C (Lucchetti *et al.*, 2004).

Al realizar los análisis según analito (Tabla N° 2) la flumequina fue el fármaco detectado con mayor frecuencia (7,1%) para los 3 años estudiados (2004-2005-2006). En segundo lugar se encuentra la emamectina con un 6,39%. Luego encontramos la oxitetraciclina con un 4,71% de detección. En el cuarto lugar se ubica el ácido oxolínico, con un 3,75% de detección. Para el resto de las drogas incluidas en el Programa de Control de Residuos encontramos que su porcentaje de detección va entre 0% (9 de los 18 analitos incluidos) a 1,9% (metil mercurio). El comportamiento mostrado por los 4 fármacos más detectados podría deberse a 3 factores de importancia:

- a) Registro de Medicamentos: En Chile sólo pueden ser utilizados productos farmacéuticos que estén registrados para su uso en acuicultura, entre los que se encuentran los 4 fármacos con mayor porcentaje de UM detectadas (Tabla N°3).
- b) Enfermedades: En Chile existe una alta prevalencia de patologías como el Síndrome Rickettsial del Salmón (SRS), Enfermedad Bacteriana del Riñón (BKD) y las parasitosis provocada por el Caligus. Esto ha llevado a que para el tratamiento

de estas enfermedades deban ser utilizados fármacos. Así por ejemplo, los niveles de muestras positivas a benzoato de emamectina podrían ser explicados por que es el único fármaco autorizado efectivo contra este parásito (Mancilla, 2005). Por otro lado tenemos a las quinolonas (ácido oxolínico, flumequina) y tetraciclinas (oxitetraciclina) que son los tratamientos más usados en el Síndrome Rickettsial del Salmón y en la Enfermedad Bacteriana del Riñón (INTESAL, 2004).

- c) Comercialización: debemos tomar en cuenta la variable precios (Tabla N° 3), en donde se puede evidenciar que los fármacos más frecuentemente detectados también son los de menor precio. Así la flumequina, que tuvo el mayor porcentaje de unidades muestrales positivas (7,1%), es también el fármaco más comercializado para la salmonicultura chilena, con 70.000 kg, seguido por el ácido oxolínico (3,75% detección) del cual se comercializaron 37.940 kg y en tercer lugar se ubica la oxitetraciclina (4,71% detección), para la cual se comercializaron 19.644 kg. Se ha estimado que para el año 2006, con una producción de 700 mil toneladas brutas, los costos generados por el uso de fármacos para el control de patologías llegará aproximadamente a los 22 millones de dólares (Bravo *et al.*, 2005).

2.- Determinación en las Unidades Muestrales que resulten positivas a los fármacos de mayor uso, cuantas muestras (pescados) presentan concentraciones sobre los límites de detección.

En la Tabla N° 4, se observa el número y porcentaje de Unidades Muestrales (UM) positivas según el número de muestras (pescados) que presentaron concentraciones sobre los límites de detección para ácido oxolínico, flumequina y oxitetraciclina durante el año 2006. Podemos observar (Tabla N° 4) que de las 134 UM positivas, para éste año 39 tienen 6 muestras que presentaron concentraciones sobre los límites de detección, llegando al 29,1%. Las UM que presentan 1 pescado que superaron los límites de detección, llegan al 11,19%.

Con estos resultados podemos ver que un 45.9% las UM muestrales presentan menos de cuatro pescados sobre los límites de detección, por otro lado, si lo vemos a través de las UM que tienen mas de cuatro pescados sobre los límites de detección obtenemos que un 53.73% presentan esta condición.

Esta información podrá ser utilizada en futuras modificaciones al Programa de Control de Residuos, ya que como podemos ver una considerable proporción de las UM tiene bajo número de pescados sobre los límites de detección, lo que hace que ellas tengan una probabilidad de detección baja, comparado con aquellas UM que presentan sobre 5 pescados sobre los límites de detección.

3.- Determinar la probabilidad de entregar resultados falsos negativos para los fármacos de mayor uso.

Este objetivo fue planteado ya que nosotros consideramos que existe un alto riesgo de no detectar un fármaco o contaminante al tomar sólo una muestra en cada Unidad Muestral (UM), debido a la baja probabilidad de detección. Esto se presenta en la Tabla N° 5, en donde se señalan las distintas probabilidades de detección de una UM cuando se analizan distintos números de muestras. En la situación actual del Programa de Control de Residuos debido a que sólo se toma una muestra por UM para cada analito, se presenta una probabilidad de detección del 14,29%. Esto es bajo, si lo comparamos con la situación cuando se toman 3 muestras en que se llega a un valor de 42,86 % lo que da una mayor probabilidad de detección de una UM.

Para corroborar lo anteriormente expuesto, se realizó nuevamente los análisis a 200 UM escogidas al azar e informadas como negativas a ácido oxolínico, flumequina y oxitetraciclina durante el año 2006. Se encontraron 30 UM como falsos negativos lo que corresponde a un 15% (Tabla N° 6). El mayor porcentaje de falsos negativos fue para el ácido oxolínico, con 14 muestras que resultaron positivas correspondiendo a un 21,5%. En segundo lugar se ubicó flumequina que con un total de 10 falsos negativos correspondiendo al 15,4%. En el tercer lugar se ubicó la oxitetraciclina con un 8,6%.

Esta situación podría ser explicada por la baja probabilidad de detección, comentada anteriormente, que se obtiene cuando se analiza sólo un pescado por analito (14,29%) llevando a que en aquellas UM que presentan un bajo número de pescados sobre los límites de detección tengan una alta probabilidad de ser informadas como negativas.

Estos resultados pondrían en evidencia la necesidad de aumentar el número de muestras que son analizadas dentro de cada UM del Programa Nacional de Control de Residuos para Salmones de Exportación al menos para los fármacos de mayor uso. Con ello disminuiríamos la probabilidad de presentación de UM falsos negativas, que como vemos en nuestro estudio, llega en promedio al 15%.

De acuerdo a los resultados de este trabajo, se sugiere que se tomen como mínimo, 2 muestras o idealmente 3 para los fármacos de mayor utilización de la salmonicultura chilena.

GRÁFICOS Y TABLAS

Tabla N° 1: Frecuencia y porcentaje de Unidades Muestrales positivas a residuos de fármacos y contaminantes, según año.

AÑO	D	% D	ND	%ND	TOTAL
2004	110	3,25	3277	96,75	3387
2005	73	1,98	3609	98,02	3682
2006	134	3,79	3398	96,21	3532
TOTAL	317	3	10284	97	10601

D= Detectado; ND= No Detectado

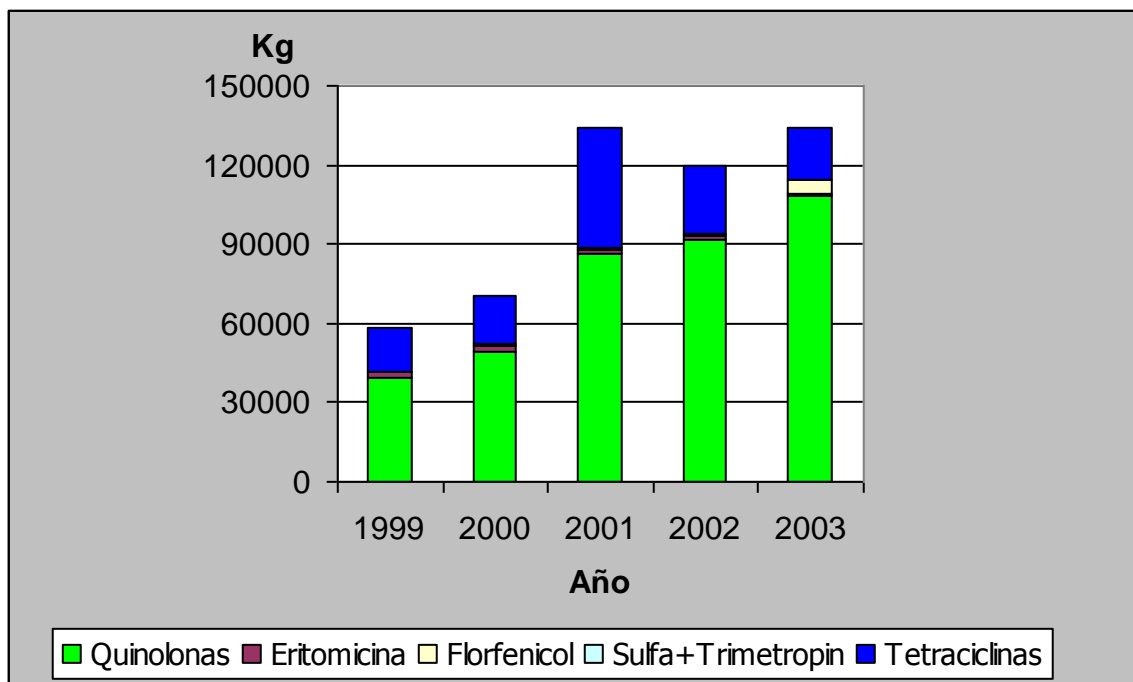


Gráfico 1: Kilogramos de antimicrobianos utilizados en la salmonicultura chilena entre los años 1999-2003 (Bravo *et al.*, 2005).

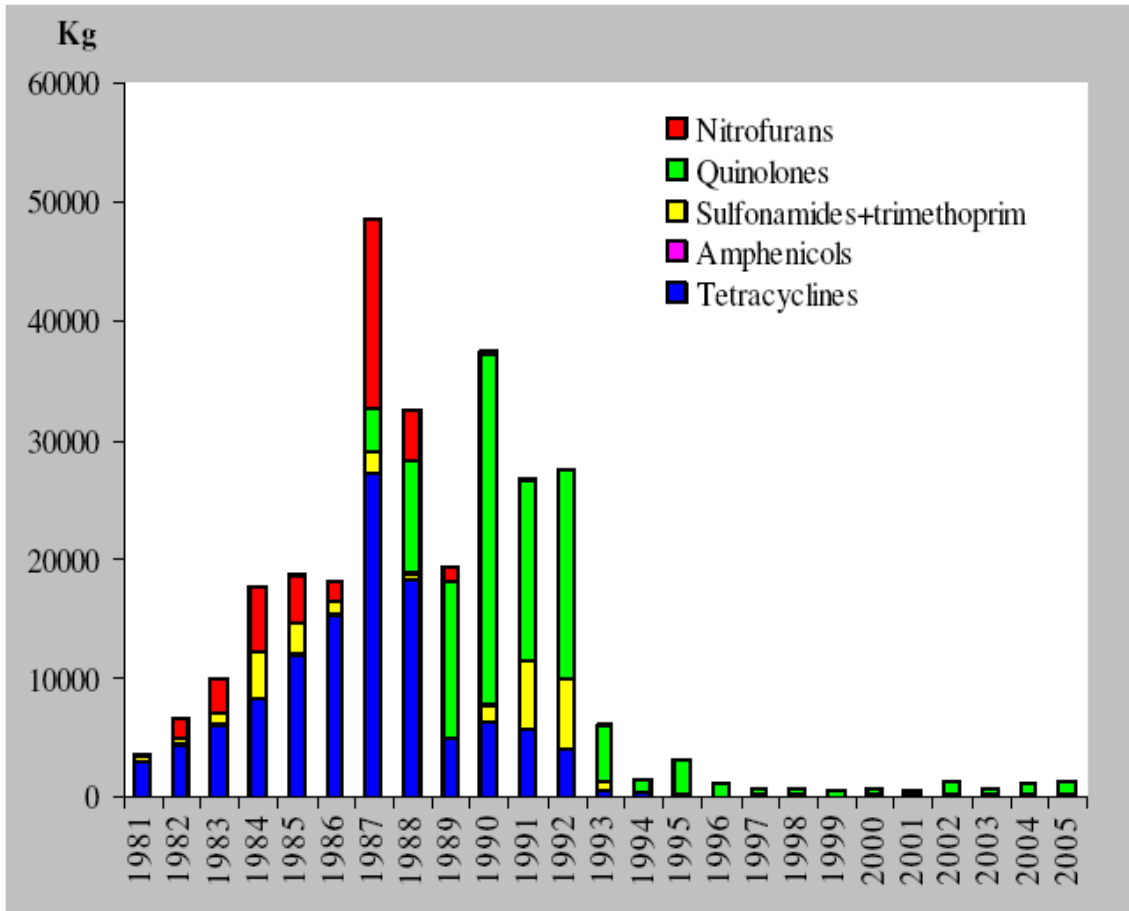


Gráfico N° 2: Kilogramos de antimicrobianos utilizados en la salmonicultura Noruega entre los años 1981-2005 (Grave, 2006).

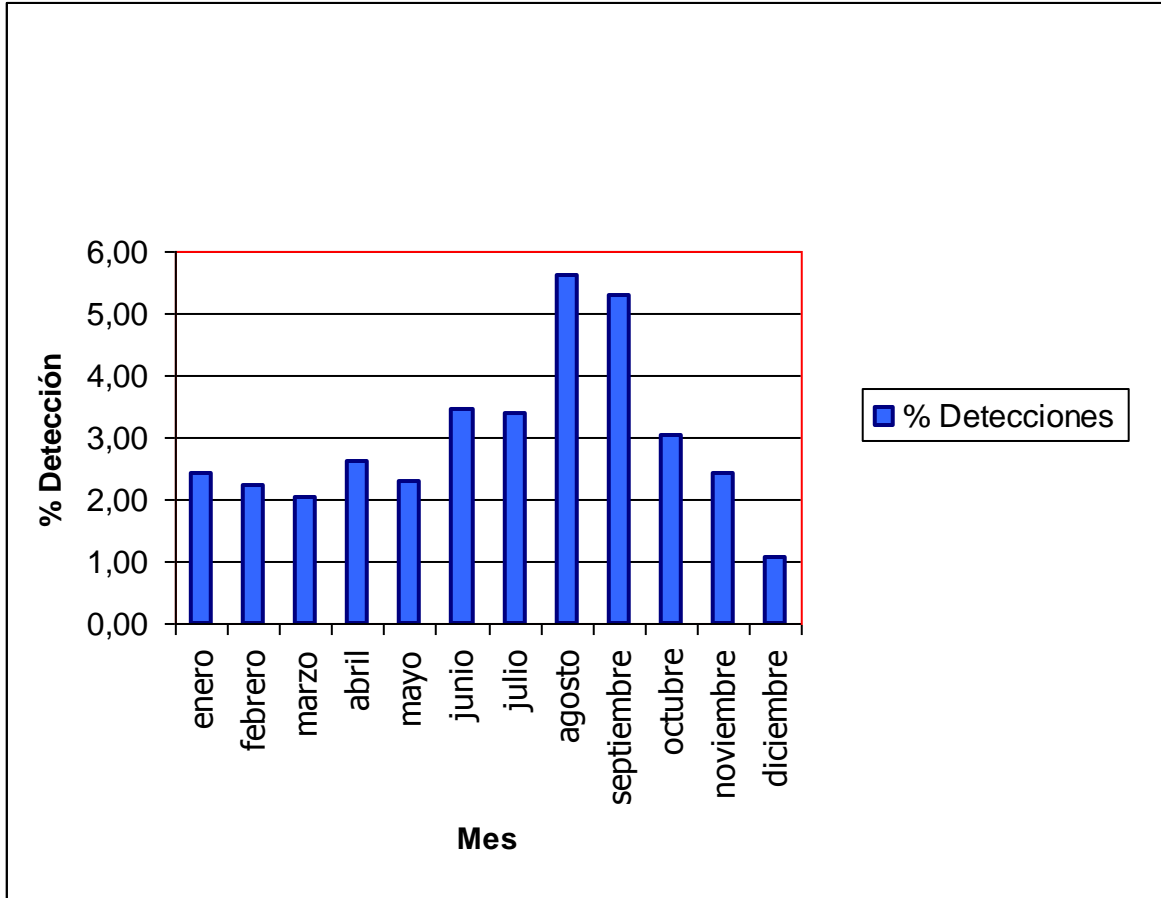


Gráfico N° 3: Porcentaje de Unidades Muestrales positivas a residuos de fármacos y contaminantes, según mes.

Tabla N° 2: Frecuencia y porcentaje de Unidades Muestrales positivas a residuos de fármacos y contaminantes, según analito.

ANALITO	D	% D	ND	%ND	TOTAL
2,4-D	0	0	132	100	132
Ac. Oxolinico	54	3,57	1460	96,43	1514
Aflatoxina	0	0	75	100	75
Amoxicilina	0	0	169	100	169
Diclorvos	1	0,76	130	99,24	131
Diquat	0	0	126	100	126
Emamectina	65	6,39	952	93,61	1017
Enrofloxacino	12	0,88	1347	99,12	1359
Eritromicina	1	0,39	257	99,61	258
Florfenicol	3	0,32	937	99,68	940
Flumequina	107	7,1	1400	92,9	1507
Ivermectina	0	0	483	100	483
Metil mercurio	3	1,9	155	98,1	158
Ocratoxinas	0	0	73	100	73
Organoclorados	0	0	564	100	564
Oxitetraciclina	71	4,71	1437	95,29	1508
Sulfonamidas	0	0	218	100	218
V. de Malaquita	0	0	369	100	369

D= Detectado; ND= No Detectado

En color rojo los analitos con mayor % de detección

Tabla N°3: Fármacos registrados para uso en acuicultura y precios para la droga al 80% de principio activo (SAG, 2007b; Bravo *et al.*, 2005).

FÁRMACOS	PRECIOS (\$/kg)
Ácido oxolínico	18.000
Flumequina	9.100
Oxitetraciclina	4.750
Eritromicina	45.317
Florfenicol	195.700
amoxicilina	42.300
Sulfadoxina	***
Emamectina	39.326
Cloramina - T	6.475
Bronopol	17.400

*** No se encontró dato

Tabla N° 4: Frecuencia y porcentaje de Unidades Muestrales positivas según el número de muestras que superan los límites de detección, año 2006.

Nº DE MUESTRAS CON RESIDUOS S.L.D.	Nº UNIDADES MUESTRALES	% UNIDADES MUESTRALES
1	15	11,19
2	15	11,19
3	15	11,19
4	17	12,69
5	13	9,70
6	39	29,10
7	20	14,93
TOTAL	134	100,00

S.L.D.= Sobre los Límites de Detección

Tabla N° 5: Probabilidades de detección según el número de muestras analizadas.

Nº MUESTRAS ANALIZADAS	PROBABILIDAD DE DETECCIÓN ACUMULADA
1	14,29
2	28,57
3	42,86
4	57,14
5	71,43
6	85,71
7	100

En color rojo el Nº de análisis realizado en el laboratorio

Tabla N° 6: Frecuencia y porcentaje de Unidades Muestrales falso negativos para los 3 fármacos más usados en salmonicultura chilena, año 2006.

Nº de UM analizadas según analito		RESULTADO	
		Detectadas o FN	% FN
Ac. Oxolínico	65	14	21,5
Flumequina	65	10	15,4
Oxitetraciclina	70	6	8,6
Total	200	30	15,0

FN= Falso Negativo; UM= Unidad Muestral

CONCLUSIONES

- 1.- En base a los resultados obtenidos se puede concluir que Chile no está exento de presentar residuos de fármacos y contaminantes en productos originados en la salmonicultura, ya que los niveles de detección alcanzan al 3%, constituyendo esta realidad un riesgo para la salud pública y para el comercio internacional.
- 2.- El comportamiento de las detecciones mensuales presenta valores más altos en los meses de invierno, ello podría deberse a que los períodos de resguardo que se definen en el registro de fármacos es igual para todos los meses del año, en consecuencia los períodos de resguardo deberían ser reevaluados considerando las variaciones estacionales de las temperaturas.
- 3.- Los mayores porcentajes de detecciones se presentan en los antimicrobianos ácido oxolínico, flumequina y oxitetraciclina que además son los más comercializados.
- 4.- Se determinó la existencia de un 15% de UM falsos negativos. Con esta información podemos decir que existen deficiencias en el Programa de Control de Residuos que actualmente opera en Chile para salmónes de exportación. Estas falencias pueden ser solucionadas aumentando el número de muestras que son analizadas para cada analito dentro de la UM, al menos para los fármacos más utilizados en Chile.

BIBLIOGRAFÍA

- **AQUA, 2007.** [en línea] Estadísticas de Acuicultura y Pesca. Enero-Diciembre 2005-2006. <http://www.aqua.cl/estadisticas/index.php>. [Consulta: 18 abril 2007].
- **BRAVO, S; DOLS, H.; SILVA M.T.; LAGOS, C.; MILLANAO, A.; URBINA, M. 2005.** Diagnóstico del uso de Fármacos y otros Productos Químicos en la Acuicultura. Proyecto N° 2003-28. Puerto Montt, Chile. Universidad Austral de Chile. Facultad de Pesquerías y Oceanografía pp. 25-176.
- **CABELLO, C. 2004.** Antibióticos y Acuicultura en Chile: Consecuencias para la Salud Humana y Animal. Rev méd Chile. 132: 1001-1006.
- **CERNIGLIA, C.E., KOTARSKI, S. 2005.** Approaches in the Safety Evaluations of Veterinary Antimicrobial Agents the Food to Determine the Effects on the human Intestinal Microflora. J Vet Pharmacol Ther. 28: 3-20.
- **FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 1999.** Importancia de la Calidad de los Alimentos para Países en Desarrollo. Comité de Seguridad Alimentaria Mundial. 25º período de sesiones (Roma). pp.2-4.

- **FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2002.** El Estado de la Pesca y la Acuicultura. 4ª ed. Publicación electrónica. Temas de Interés para los Pescadores y Acuicultores pp. 74-82.
- **FAO/OMS. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 1995.** Programa Conjunto Sobre Normas Alimentarias, Comisión CODEX ALIMENTARIUS, Volumen 3, Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos. Segunda edición, pp. 27-39.
- **FAO/OMS. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 2003.** Directrices para el Fortalecimiento de los Sistemas Nacionales de Control de los Alimentos, publicación conjunta FAO/OMS, pp. 12-20.
- **FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. 2000.** [en línea] United States Food Safety System. <http://www.foodsafety.gov/~fsg/fssyst2.html> [consulta: 11 septiembre 2006].
- **FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. 2004.** Assessment of the Effects of Antimicrobial Drug Residues From Food of Animal Origin on the Human Intestinal Flora. pp. 3-6.

- **FERNANDEZ, F.; LOPEZ, J.; PONCE, L.; MACHADO, C. 2003.** Resistencia Bacteriana, Trabajos de Revisión. Rev Cub Med Mil. 8: 3-7.
- **FORTT, A.; CABELLO, C.; BUSCHMANN, A. 2006.** Residuos de Tetraciclinas y Quinolonas en una Zona Costera donde se Desarrolla la Acuicultura del Salmón en Chile. Rev méd Chile. 24: 14-18.
- **GUARNER, F.; MALAGELADA, J. 2003.** Gut Flora in Healt and Disease. Lancet. 361: 512-519.
- **GRAVE, K.; LILLEHAUG, E.; LUNESTAD, B.T.; HORSBERG, T.E. 1999.** Prudent use of antibacterial drugs in Norwegian aquaculture Surveillance by the use of prescription data. Acta Vet Scand. 40: 95-185.
- **GRAVE, K. 2006.** [en línea] Previous and Current Trends in the Usage of Antimicrobial in Norwegian Aquacultura <http://www.aquamedicine.no/bilder/Trends%20ab.pdf>. [Consulta: 18 abril 2007].
- **HANEKAMP, J.C.; FRAPPORTI, G.; OLIEMAN, K. 2003.** Chloramphenicol, food safety and precautionary thinking in Europe. *The Environmental Liability.* pp. 209-215.
- **INTESAL. 2004.** Aquatic Health. Enfermedades Presentes en la Salmonicultura Chilena que Requieren Vacunas para su Prevención. pp. 2-18.

- **KAFERSTEIN, F.; ABDUSSALAM, M. 1999.** La Inocuidad de los alimentos en el Siglo XXI. Bull World Health Organ. 77: 347-351.
- **LUCCHETTI, D. ; FABRIZI, L.; GUANDALINI, E.; PODESTA, E. 2004.** Long Depletion Time of Enrofloxacin in Rainbow Trout. Antimicrob Agents Chemother. 48: 3912-3917.
- **MANCILLA, M. 2005.** Evaluación del Efecto del Benzoato de Emamectina sobre *Caligus rogercresseyi* Via Modelo Simulación. Tesis para optar al Título de Biólogo Marino. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias, Escuela de Biología Marina.
- **OMC, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DEL COMERCIO 1994.** [en línea] Acuerdos Multilaterales en el Comercio de las Mercancías, Acuerdo sobre la aplicación de medidas sanitarias y fitosanitarias.
<file:///E:/datos%20revisión%20bibliográfica/OMC%20Acuerdo%20sobre%20la%20Aplicación%20de%20Medidas%20Sanitarias%20y%20Fitosanitarias.htm>
[consulta: 11 septiembre 2006].
- **RANG, H.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. 2000.** Efectos Nocivos de los Fármacos. In: Farmacología. Madrid, ediciones Harcourt. pp. 804-815.

- **SAG, SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO. 2007a.** Programa de Control de Residuos en Productos Pecuarios. Ministerio de Agricultura. Gobierno de Chile. pp. 2-7.
- **SAG, SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO. 2007b.** [en línea] Registro Medicamentos Veterinarios. Ministerio de Agricultura.
http://laima.sag.cl/AppSag/public/medicamentos/medicamentos_B.jsp
[consulta: 11 junio 2007].
- **SANZ, Y.; COLLADO, M.C.; HAROS, M.; DALMAU, J. 2004.** Funciones Metabólico-nutritivas de la Microbiota Intestinal y su Modulación a través de la Dieta: Probióticos y Prebióticos. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos. Act Ped Esp. 62: 30-36.
- **SALGADO, R. 2005.** Análisis del Desarrollo de la Salmonicultura Chilena. Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Departamento de Economía Agraria.
- **SERNAPESCA, SERVICIO NACIONAL DE PESCA. 2006a.** Programa de Control de Fármacos, Manual de Procedimientos, Sección 1, Programa de Control de Residuos.

- **SERNAPESCA, SERVICIO NACIONAL DE PESCA. 2006b.** Programa de Control de Fármacos, Norma técnica, Sección 2, Requisitos para la evaluación de farmacéuticos de uso en acuicultura.
- **TALÉNS-VISCONTI, R.; GARRIGUES T.M.; CANTÓN E. 2002.** Mecanismos de resistencia bacteriana de las quinolonas. Rev Esp Quim. 15: 1-5
- **TEITELBAUM, J.E.; WALKER W.A. 2002.** Nutritional Impact of Pre-and Probiotics as Protective Gastrointestinal Organisms. Annu rev nutr 22: 107-138.
- **TWEDT, D.C.; DILE, K.J.; LAPPIN, M.R.; GETZY, D.M. 1997.** Association of hepatic necrosis with trimethopim sulphonamide administration in 4 dogs. J Am Vet Inter Med 11: 20-23.
- **WHO, WORLD HEALT ORGANIZATION. 2004.** Toxicological Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Food. WHO Food Additives Series: 53. pp. 93-96.
- **WOODWARD, K.N. 2005a.** Veterinary Pharmacovigilance. Part 4. Adverse Reactions in Humans to Veterinary Medicinal Products. J Vet Pharmacol Ther 28: 185-201.

- **WOODWARD, K.N. 2005b.** Veterinary Pharmacovigilance. Part 1. The Legal Basis in the European Union. J Vet Pharmacol Ther 28: 131-147.