

DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE OXITETRACICLINA EN MUESTRAS DE TEJIDO BOVINO DESTINADAS AL CONSUMO HUMANO

Determination of Oxytetracycline Residues in Samples of Bovine Tissues Used for Human Consumption

Sonia M. Alvarado^{*1}, Elías Ascanio^{**} y Carolina Méndez^{***}

Cátedra de Histología y Embriología. **Cátedra de Farmacología y Toxicología, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay, estado Aragua. Venezuela. *Departamento de Morfología y Patología Normal. Escuela de Medicina "Dr Witremundo Torrealba" Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo Sede Aragua. Maracay, estado Aragua, Venezuela*

Correo-E:alvaradorico8@gmail.com

Recibido: 19/05/08 - Aprobado: 01/10/08

RESUMEN

Las oxitetraciclinas (OTC) son antimicrobianos de amplio espectro que se han utilizado de manera indiscriminada en Medicina Veterinaria. Estos fármacos pueden permanecer como residuos químicos en alimentos, lo que pudiera provocar graves problemas de Salud Pública. Entre estos problemas podemos mencionar: desarrollo de resistencia bacteriana a antimicrobianos, alergias, trastornos en la osificación, dentición y efectos carcinógenos. En Venezuela no existe control en cuanto a la dosificación, frecuencia de aplicación y cumplimiento del tiempo de retiro de los fármacos; menos aún existen servicios de inspección oficial que vigilen la presencia de residuos y establezcan los límites máximos de residuos sugeridos (LMRS) en productos alimenticios de origen animal. Para evaluar la presencia de residuos de OTC, fueron utilizadas muestras de músculo, hígado y riñón, de bovinos procedentes de la Beneficiadora Industrial Maracay. En el presente ensayo se utilizó el LMRS de 250 ng/g, establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS). En un 89,3% de las muestras se detectaron residuos de OTC con un

ABSTRACT

Oxytetracyclines (OTC) are wide spectrum antimicrobials that have been used indiscriminately in Veterinary Medicine. These drugs can remain as chemical residues in foodstuff, which could lead to serious health problems, such as development of bacterial resistance, allergies, ossification and dentition disturbances, and carcinogenic effects. In Venezuela, there are no government regulations regarding dosage regimens, frequency of application and withdrawal times for OTCs. Neither there are official inspection agencies that scrutinize the presence of residues and establish the suggested maximum limits of residues (MLSRs) for food products of animal origin. This research evaluated the presence of OTC residues in organ samples of bovine used for human consumption, from Beneficiadora Industrial Maracay. Samples of muscle, liver and kidney were used. In order to compare de values obtained in this investigation, we used the MLRs values established by the World Health Organization (WHO), such values correspond to 250ng/g. Results of this investigation, show that OTC were detected in 89.3% of all tissue

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

nivel promedio de 781,54 ng/g \pm 1033,29, lo cual resultó ser superior a lo establecido como LMRS. El promedio de residuos para cada tejido resultó ser de 533,84 ng/g \pm 527,92 para músculo, 917,16 ng/g \pm 1295,41, para hígado y 819,14 ng/g \pm 859,18 para riñón. Estos hallazgos confirman el incumplimiento de los tiempos de retiro en la práctica pecuaria en nuestro país.

(Palabras clave: Ganado bovino, Oxitetraciclina hígado, músculo, riñón, residuos)

samples evaluated, with a mean OTC residue of 781,54 ng/g \pm 1033,29. These values are higher than the already established MLSRs. The mean OTC value for each tissue sample was: 533,84 ng/g \pm 527,92 for muscle; 917,16 ng/g \pm 1295,41 for liver and; 819,14 ng/g \pm 859,18 for kidney respectively. These results suggest that there is not an adequate monitoring for withdrawal times in terms of OTC in veterinary practice.

(Key words: Cattle, Oxytetracycline, liver, muscles, kidneys, residues)

INTRODUCCIÓN

Las oxitetraciclinas (OTC) forman parte de una de las familias de antibióticos más antigua: la primera de ellas, la clortetraciclina fue obtenida en 1948 a partir del *Streptomyces aureofaciens* y en 1950, se aisló del *Streptomyces rimosus* (Araujo y Mediavilla, 1984). Las OTC derivan del hidronaftaceno y tienen una estructura tetratricíclica. Actúan bloqueando la síntesis proteica de los microorganismos sensibles (Martínez, 1987; Harman et al., 1996) y ejercen un efecto bacteriostático actuando contra gérmenes Gram positivos y Gram negativos. Se administran por vía oral, aunque también existen preparados para ser usados por vía parenteral. Su amplio espectro antibacteriano ha conducido a su uso indiscriminado en Medicina Veterinaria; adicionalmente, el incremento de la producción animal intensiva para la obtención de alimentos para el consumo humano, ha permitido en décadas recientes, un aumento sustancial del uso de estos fármacos con fines terapéuticos o preventivos, utilizándose igualmente como promotores del crecimiento (Silvestre, 1996). El mayor énfasis ha sido puesto en la prevención de enfermedades. Los sistemas intensivos de producción animal aún dependen del uso de los antimicrobianos, lo cual se evidencia en el continuo crecimiento de la industria de mercadeo de antimicrobianos y de alimentos formulados. Si bien la utilización de fármacos continúa siendo el mecanismo más efectivo para el tratamiento de las diversas enfermedades bacterianas causadas por diferentes microorganismos patógenos, éstos y, particularmente las OTC, pueden permanecer

como residuos químicos en los alimentos, lo cual provoca situaciones nocivas para la salud. Entre estas acciones podemos mencionar resistencia de los microorganismos a su acción, alergias, problemas de osificación y dentición por su acción quelante sobre el ión calcio y efectos carcinogénicos (Monnet et al., 2000). El uso indiscriminado de fármacos en la producción animal ha sido una de las razones por las cuales los organismos oficiales se han interesado en la vigilancia de residuos químicos en productos comestibles de origen animal (Sumano y Ocampo, 1995).

A los fines de atender esta situación, en los Estados Unidos de Norte América (EEUU), se crearon organismos gubernamentales tales como la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA), el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), los cuales se encargan de realizar el seguimiento de los alimentos para consumo humano en diferentes etapas de la cadena alimentaria, es decir, desde su producción hasta su consumo, sin dejar de lado su procesamiento y distribución (Damian et al., 1997).

En el año 1998, en EEUU se crearon programas de Control de Calidad de Análisis de Riesgo de Residuos cuya finalidad era evaluar la presencia de residuos de drogas en productos comestibles de origen animal. La FARAD (*Food Animal Residue Avoidance Databank*, por sus siglas en inglés), organismo dependiente del Departamento de Agricultura (USDA) de ese país, creado en 1982, es una institución que se ha difundido a nivel internacional y que se encarga igualmente, de evaluar

la presencia de residuos químicos en productos comestibles, siendo su función principal fomentar la educación en lo relativo a la prevención del uso de fármacos y pesticidas. Esta información está dirigida a especialistas, científicos y médicos veterinarios que trabajan en el área agropecuaria y está orientada a cumplir con un proceso de información y prevención, aunque no se ocupa de establecer mecanismos de control o vigilancia (Craigmill *et al.*, 2000).

En Venezuela, los organismos oficiales que deben regular o garantizar el uso adecuado de los medicamentos en la práctica pecuaria, no llevan a cabo controles de dosificación de los antimicrobianos de acuerdo a la especie animal, frecuencia de aplicación y cumplimiento del tiempo de retiro (tiempo que comprende desde que el animal es sometido a tratamiento médico hasta su finalización y posterior envío al sacrificio). Estos controles varían de acuerdo al tipo de medicamento, la dosis de aplicación y la vía de administración (Martínez, 1987). Estos organismos tampoco realizan servicios de inspección veterinaria que monitoreen por medio de pruebas rápidas, la presencia de residuos de fármacos en productos de origen animal, menos aún establecen los Límites Máximos de Residuos Sugeridos (LMRS) en dichos productos. En Venezuela, se asume un LMRS para OTC de 250 ng/g, de acuerdo a los parámetros establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS); sin embargo, la política oficial encargada de vigilar la presencia de residuos químicos en productos alimenticios de origen animal, no cumple con lo establecido (Silvestri, 1987). Teniendo en cuenta el uso indiscriminado de drogas, específicamente de antibióticos tales como la OTC y la inexistencia de un control en cuanto a detección de residuos de fármacos, se infiere la presencia de residuos de OTC en bovinos destinados al consumo humano cuya demanda es relativamente elevada, a pesar de la crisis económica del país. Obviamente, esta grave problemática se traduce en un gran riesgo a la salud humana. En ausencia de investigaciones en este campo en el país, este estudio tuvo como objetivo general la determinación de residuos de OTC en muestras de tejido de hígado, riñón y músculo de bovinos beneficiados procedentes de la Beneficiadora Industrial Maracay, estado Aragua; además de asociar y establecer diferencias de la presencia de residuos, con el tipo de tejido y sexo del animal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y Muestra

La población objeto de este estudio estuvo constituida por ganado bovino mestizo de ambos sexos, beneficiado durante los meses de julio y agosto, el cual es enviado regularmente a la Beneficiadora Industrial Maracay, estado Aragua, y que provenía de fincas ubicadas en los estados Apure, Aragua, Barinas, Guárico, Miranda, Portuguesa y Yaracuy. Estos animales estuvieron sometidos a diferentes tipos de explotación (intensiva, extensiva y semi intensiva). De esta población, se seleccionaron ciento cincuenta (150) reses, para posteriormente proceder a la extracción de muestras de tejido de hígado, riñón y músculo. Las muestras fueron almacenadas congeladas a -80°C , en un congelador marca REVCO, hasta su posterior análisis.

Debido a que las principales fuentes de error proceden de la técnica de muestreo y del procedimiento analítico, se estableció un plan de muestreo que contempló, a su vez, un submuestreo y preparación de las muestras para el análisis en el laboratorio (León *et al.*, 1999), reduciéndose finalmente a cincuenta y seis (56) muestras del total.

La selección de tejido renal y hepático se efectuó, con base en la vía de eliminación de la OTC (Araujo y Mediavilla, 1984) lo cual ocurre en mayor porcentaje a través dichos tejidos, además de ser éstos productos de consumo masivo. Con respecto al tejido muscular, se eligió el músculo ventro lateral abdominal, llamado en carnicería falda de lomito. Este corte se utiliza en la preparación de alimento y al igual que los anteriores, posee gran demanda por parte de la población, debido a su relativo bajo costo.

Con la finalidad de validar la metodología empleada, se procedió a realizar una prueba piloto con muestras previamente detectadas como libres de residuos de OTC. Las muestras se inocularon con concentraciones conocidas del estándar de OTC HCL, (*Chifeng Pharmaceutical Factory*, China) a una longitud de onda 274nm, con una pureza del 96,5%. Se obtuvo un porcentaje de recuperación del fármaco de 96%. Al comparar el porcentaje de recuperación obtenido en la validación de los métodos de análisis con los parámetros establecidos como aceptables, los cuales están comprendidos

entre 70-110% (AOAC, 1984), se observó que los resultados del estudio se encontraban dentro de los límites permitidos, con lo cual se garantizó la confiabilidad de los mismos.

Procedimiento metodológico

El estudio se llevó a cabo en dos fases: una fase de procesamiento de la muestra, que consistió en la homogeneización y una fase de detección de residuos de OTC por cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC); (AOAC, 1984). Para ello, se empleó un cromatógrafo líquido básico modular marca Beckman con un detector UV 166 con una longitud de onda de 360 nm. Ambos equipos fueron conectados a una computadora Digital Venturis 590 con una impresora Epson LX 300, a la cual se le incorporó el paquete computacional System Gold, versión 8.1. Se justificó el uso de la HPLC, como método instrumental en esta investigación por ser el establecido como método oficial analítico reglamentado por la AOAC para detectar residuos de tetraciclinas en alimentos.

MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Se realizó un análisis descriptivo para determinar los porcentajes de presencia de residuos de OTC en las muestras. También se efectuó una prueba no paramétrica de *Kruskal-Wallis*, para detectar si existía la asociación entre residuos y tipo de tejido. Además, se utilizó la prueba “*t*” de Student, para comparar los valores de presencia de residuos entre ambos sexos. Los datos fueron expresados como la media más o menos la desviación estándar (promedio \pm DE). Los resultados fueron considerados significativos para un valor $p < 0,05$.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en esta investigación indican que del total de muestras procesadas, luego de realizar el submuestreo (56), a un 89,3% (50/56) se le detectó la presencia de residuos de OTC y sólo el 10,7% (6/56) no mostró niveles detectables de residuos de este antibiótico. De las muestras que resultaron con presencia de residuos de OTC, el 96% de las mismas evidenció presencia de residuos superiores a 250 ng/g, y solo un 4% de las muestras tuvo residuos inferiores a los límites establecidos por

la AOAC (Tabla 1).

En la Tabla 2 se presentan los porcentajes de residuos de OTC en cada tejido. Se observa que en todas las muestras de riñón (100%) se detectó la presencia de residuos de OTC, siguiéndole el hígado con un 92,9% y el músculo con un 76,5%.

El valor promedio de residuos de OTC obtenido del total de las muestras de tejidos fue de 781,54 ng/g \pm 1033,29, correspondiendo 533,84 ng/g \pm 527,92 para músculo, 917,16 ng/g \pm 1295,41, para hígado y 819,14 ng/g \pm 859,18 para riñón (Tabla 3).

El análisis de *Kruskal-Wallis* ($p > 0,05$) indicó que ambas variables (presencia de residuos *vs* tejidos) no están relacionadas. Por otra parte, también se evidenció que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre machos y hembras para las muestras de hígado y riñón (Tabla 4), observándose una mayor presencia de residuos de OTC, en las muestras de hígado y riñón de las hembras.

DISCUSIÓN

Los resultados de la presente investigación, demuestran que en la gran mayoría de las muestras procesadas (89,3%) se evidenció la presencia de residuos de OTC. Se encontraron valores de residuos superiores al LMRS de 250ng/g, dados por la OMS para la OTC, los cuales fueron utilizados como parámetro de referencia en el presente ensayo.

Estos resultados indican la existencia de residuos de OTC en productos comestibles, lo cual evidencia el incumplimiento del tiempo de retiro del fármaco, por parte de los ganaderos, a pesar de que los fabricantes lo establecen expresamente en la etiqueta de los productos farmacéuticos (Silvestri, 1987).

De las muestras que resultaron positivas a la

Tabla 1. Residuos de OTC detectados en muestras de tejidos de bovinos sacrificados en la Beneficiadora Industrial Maracay

Residuos de OTC (ng/g)	n*	Residuos (%)
≥ 250	48	96
< 250	2	4
Total	50	

*n: número de muestras con residuos OTC

presencia de residuos de OTC, en el 96% de las mismas se obtuvieron niveles de residuos superiores a 250 ng/g, valor establecido como LMRS para carne de bovino de consumo humano, coincidiendo estos resultados con los hallazgos de Lobo *et al.* (1999). Aún cuando en los países de la Unión Europea se establece como LMRS de 600 ng/g, Lobo *et al.* (1999), estos autores detectaron niveles de OTC superiores a 600 ng/g, a pesar de las regulaciones en cuanto a LMRS para OTC.

Los promedios de residuos de OTC detectados en los tejidos analizados fueron superiores al LMRS, como lo señalan Anastasi *et al.* (2000), quienes determinaron experimentalmente niveles de residuos de OTC en muestras de músculo, hígado y riñón a diferentes tiempos (9 d, 21 d y 40 d), luego de la administración de la droga por vía intramuscular en corderos jóvenes. Los resultados de esa investigación y de la nuestra, una vez más confirman que no existe control en cuanto al manejo de ese tipo de medicamentos y que los organismos oficiales no llevan a cabo programas de detección de residuos químicos en los productos alimenticios de origen animal. La presencia de residuos de OTC en los tejidos de los animales que fueron objeto de esta investigación, indica que llegaron al matadero habiendo sido previamente medicados; no cumpliéndose con el tiempo estipulado de retiro del fármaco, a fin de alcanzar la concentración permitida o su eliminación del organismo.

No existió relación entre la presencia de residuos de OTC y el tipo de tejido. Esto significa que no existe una afinidad de la OTC por algún tejido en particular. Sin embargo, en términos de valores absolutos, los niveles promedio de residuos de OTC fueron mayores en las muestras de hígado; mientras que las muestras de riñón, a su vez, fueron mayores que los del músculo. Este análisis se ajusta

a la farmacocinética de la droga debido a que se metaboliza y excreta por vía hepática y renal en mayor proporción (Araujo y Mediavilla, 1984; Shaw y Rubin, 1986). Estos resultados coinciden con los señalados por Lobo *et al.* (1999), quienes determinaron residuos OTC y de sus cuatro epímeros y obtuvieron una mayor proporción de este fármaco en hígado y riñón de corderos destinados al consumo humano.

Se observó que existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en cuanto a la presencia de residuos entre machos y hembras, para las muestras de hígado y riñón, demostrándose una mayor presencia de residuos de OTC en las muestras de hígado y riñón de las hembras.

Cabe destacar que en las explotaciones, las hembras son sometidas a tratamiento indiscriminado con medicamentos, particularmente OTC en mayor proporción que los machos. Probablemente, esto sea debido a que son vacas que han sufrido de mastitis y están recién paridas, y luego son enviadas al matadero sin cumplir con el tiempo de retiro establecido.

Las indicaciones de la utilización del producto, establecen un tiempo de espera de 6 días para que el antibiótico se elimine del organismo, antes que los animales sean enviados al matadero. Este tiempo no se cumple. Más grave aún, los ganaderos utilizan estos productos a nivel de campo, de manera irracional, como una panacea en el tratamiento de cualquier enfermedad.

Es necesario señalar, que al analizar la relación entre la presencia de residuos de OTC en muestras de hígado y riñón con el resultado de acuerdo al sexo del animal, se observó que la situación es realmente alarmante, ya que existen mercados populares que ofrecen productos cárnicos a bajo costo. Al evaluar el beneficio, distribución y mercadeo de este rubro, es factible identificar que se incorpora a la cadena

Tabla 2. Residuos (%) de OTC en muestras de hígado, riñón y músculo de bovinos sacrificados la Beneficiadora Industrial Maracay

Órgano	n*	(%)
Riñón	11	100
Hígado	26	92,9
Músculo	13	76,5
Total	50	

* n: número de muestras con residuos OTC

Tabla 3. Concentración promedio de residuos de OTC (ng/g) en muestras de hígado, riñón y músculo de bovinos sacrificados la Beneficiadora Industrial Maracay

Tejido	n*	Promedio ng/g
Hígado	26	917,16
Riñón	11	819,14
Músculo	13	533,84

* n: número de muestras

Tabla 4. Concentración promedio de residuos de OTC (ng/g) en muestras de hígado y riñón de bovinos sacrificados en la Beneficiadora Industrial Maracay, según sexo del animal

Tejido	Sexo	n*	Promedio de residuos de OTC (ng/g)	t	p
Hígado	Macho	16	1167,8	-2,85	0,0083 (p<0,05)
	Hembra	10	1504,5		
Riñón	Macho	6	396,25	-3,16	0,0102 (p<0,05)
	Hembra	5	1326,6		

* n: número de muestras

comercial un gran número de hembras, principalmente por su bajo costo. Aunado a esto, tanto el hígado como el riñón poseen una gran demanda dentro de los estratos medios bajos de nuestra población, aumentando el impacto negativo que puede estar ocasionando dichos residuos en la Salud Pública.

CONCLUSIÓN

Se detectó presencia de residuos de oxitetraciclina, en un 89,3%, en las muestras de tejidos de bovinos destinados al consumo humano, procedentes de la Beneficiadora Industrial Maracay, este resultado supera a los valores citados por otros autores. Dichos resultados probablemente están determinados por el incumplimiento en los tiempos de retiro y la escasa vigilancia por parte de las autoridades sanitarias venezolanas, los cuales pudieran estar causando graves riesgos, no evaluados hasta la fecha en la Salud Pública.

RECOMENDACIONES

Se recomienda establecer un programa sistemático de vigilancia a nivel de explotaciones de ganadería bovina, a fin de controlar el cumplimiento de retiro de los fármacos en los animales tratados, previo a su envío al matadero, así como también, realizar pruebas de determinación de residuos de fármacos en productos comestibles de origen animal.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Central de Venezuela, por el apoyo brindado, en la fase preliminar del procesamiento de las muestras.

Al Laboratorio de Bioquímica Nutricional de la Cátedra de Bioquímica de la Universidad Central de Venezuela, por el procesamiento de las muestras

para Cromatografía Líquida. A FUNDACITE Aragua y al CDCH, por el financiamiento para la realización del ensayo.

REFERENCIAS

- Anastasi, G.; Cinquina, A.L.; Longo, F.; Gianetti, N.; Fiorucci, N.; Cozzani, R.; Fagiolo, A. 2000. Determination of oxytetracycline in muscle, liver and kidney after intramuscular administration in experimentally healthy calves. *J. Vet. Phar. Therp.*, 23:1 (Resumen).
- Araujo, J.A.; Mediavilla, A. 1984. Tetraciclina y cloranfenicol. En: Farmacología Humana. 2da ed. Tomo II. Ediciones Científicas Salvat. pp.1029-1036.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC).1984. Official Methods of Analysis. Washington, D.C. EEUU.13ra edición.
- Craigmill, A.L.; Riviere, J.E.; Weeb, A.I. 2000. Food safety, FARAD and residue avoidance in the 6th millennium. *J. Vet. Phar. Therp.*, 23:1 (Resumen).
- Damian, P.; Cragmill, A.; Riviere, J. 1997. Breaking new ground. *JAVMA.*, 210:633-634.
- Harman, J.; Limbird, L.; Milonoff P.; Ruddon, R.; Goodman-Gilman, A. 1996. Tetraciclinas y cloranfenicol. En: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 9na ed. Vol. I.Ed. Mc Graw Hill Interamericana. México. pp.1193-1224.
- León, M.J; Vero, S.; Jodral, M. 1999. Importancia de los planes de muestreo en la determinación de micotoxinas alimentarias. *Alimentaria*, 99:31-34.
- Lobo, M.; Martínez-Larrañaga, M.R.; Tafur, M.; Martínez, M.A.; Frego, M.T.; Díaz, M.J.; Anaddón, A. 1999. Vigilancia de residuos de tetraciclina, oxitetraciclina y clortetraciclina y sus 4 epímeros en corderos destinados a consumo humano. *Rev. Toxic.*, 16:156-161.
- Martínez, T.B. 1987. Los Antibióticos en Veterinaria. 2da Edición. Multimar. Maracay. 232 p.
- Monnet, D.; Emborg, H.; Andersen, S.; Schöller, C.; Sorensen, T.; Bager, F. 2000. Vigilancia de las

- resistencias bacterianas a los agentes antimicrobianos en Dinamarca-Eurosurveillance. 5:129-32.
- Shaw, D.H.; Rubin, S.I. 1986. Pharmacologic activity of doxycycline. *JAVMA.*, 189:808-810.
- Silvestri, R. 1987, Productos Farmacéuticos Veterinarios. 4ta Edición. Editorial Universitaria Maracay, Venezuela. pp. 33-34.
- Silvestre, A. 1996. Residuos de medicamentos de uso veterinario, antibióticos. En: Toxicología de los alimentos. 2da. ed. Ed. Hemisferio Sur. Argentina. pp. 391-398.
- Sumano L.H.; Ocampo C., L. 1995. Bases farmacológicas de la vigilancia de residuos de fármacos en productos de origen animal. *Vet. Mex.*, 26:175-181.