

ISBN: 970-27-0770-6

CUANTIFICACIÓN DE CLORTETRACICLINA, OXITETRACICLINA Y TETRACICLINA EN CERDOS POR MEDIO DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)

González Aguilar Delia, Huerta González M. de Lourdes, Kühne Michael¹, Ramírez Álvarez Agustín, Pacheco Gallardo Carlos
Departamento de Salud Pública del CUCBA, UdG KM. 15.5 Carretera Nogales, las Agujas, Zapopan, Jal. ¹ Escuela Superior de Medicina Veterinaria de Hannover, Alemania.

Diversas publicaciones científicas han indicado alta incidencia de residuos de tetraciclina en carne y hueso de bovino, cerdo y ave al sacrificio que ya han pasado la inspección.

Los huesos son utilizados a un costo muy efectivo como fuente de proteína en la elaboración de harina de carne y harina de hueso. En la producción animal las harinas de carne y de hueso son adicionadas en el alimento sobre todo para mejorar el balance mineral.

De la cantidad de antimicrobianos aplicados en la producción animal, las tetraciclinas ocupan los primeros lugares. El 65% de los antibióticos que prescriben los veterinarios son tetraciclinas. En los rastros no solo llegan animales al término de su periodo de producción, sino también animales que tras una terapia son enviados al sacrificio, sin considerar el periodo de eliminación del medicamento. Las tetraciclinas se acumulan en los huesos del organismo. Esto es nocivo para la salud humana y animal, pues entre otros problemas, el consumo de pequeñas dosis de tetraciclinas por largo tiempo favorece el desarrollo de cepas resistentes.

El objetivo del presente estudio fue determinar los residuos de tetraciclinas mediante el método cuantitativo de HPLC en cerdos sacrificados en establecimientos autorizados de la área metropolitana de Guadalajara.

Material y metodo

Se recolectaron de muestras de hueso de cerdo procedentes de diferentes rastros del área metropolitana de Guadalajara. La cuantificación de clortetraciclina, oxitetraciclina y tetraciclina en cerdos se llevó a cabo por medio del método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) (Kühne y col., 1992).

Las muestras de hueso se limpiaron y fragmentaron en piezas de 1-2 mm, se dejaron en 50 ml de ácido clorhídrico 1 M durante 48 hrs. El sobrenadante se ajusto a pH4 con NaOH 1M y se filtro en un matraz erlenmeyer .

Se prepararon las columnas C18 para la extracción de las tetraciclinas. Para este procedimiento se utilizo una bomba de vacío en la cual se pusieron las columnas con 5 ml de metanol y se dejo gotear lentamente. Después se adicionaron 50 ml de agua destilada. Se agregó la solución ajustada a pH4 directamente a la columna y se dejó a goteo lento para evitar pérdida de tetraciclinas. En la elución se agrego metanol y agua destilada. El líquido

obtenido de la elución se sometió a evaporación, para reducir de 5ml a 1ml, durante 2 horas primero y después se dejó 1 hora más. Con esto se obtuvo el sedimento con las tetraciclinas. Para la determinación de tetraciclinas con HPLC se utilizaron 5 microlitros de extracto, se inyectó al cromatógrafo, se elaboró una curva de calibración en un rango de 4 hasta 100 ng y finalmente se obtuvieron los resultados.

Resultados

Identificación y cuantificación de tetraciclinas en muestras positivas por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

Se analizaron un total de 175 muestras, las cuales tienen el siguiente comportamiento: 49 muestras son positivas a fluorescencia +, más de la mitad de las muestras contenían residuos de más de un tipo de tetraciclina, en estas se detectaron concentraciones de OTC de 65 a 2633 $\mu\text{g}/\text{kg}$; TC en concentración de 8 a 93 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y CTC de 6 a 2587 $\mu\text{g}/\text{kg}$. En la mayoría de las muestras la mayor concentración fue de OTC. En 24 muestras con fluorescencia ++ se detectaron concentraciones de OTC de 20 a 4442 $\mu\text{g}/\text{kg}$; TC de 7 a 210 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y CTC de 40 a 4151 $\mu\text{g}/\text{kg}$, en este grupo de muestras también la mayor concentración fue de OTC. En 102 muestras con fluorescencia +++ se encontraron concentraciones de OTC de 77 a 13428 $\mu\text{g}/\text{kg}$; TC de 13 a 1730 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y CTC de 70 a 24562 $\mu\text{g}/\text{kg}$, en estas muestras la mayor concentración fue de CTC.

Cuadro No. 1 Concentración de OTC en huesos de cerdos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

	Fluorescencia + (n=42)	Fluorescencia ++ (n=21)	Fluorescencia +++ (n=95)
Rango	2568	4422	13351
Media	943.26	1988.24	3912.88
Desviación estándar	649.82	1123.66	3464.83

Cuadro No. 2 Concentración de TC en huesos de cerdos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

	Fluorescencia + (n=14)	Fluorescencia ++ (n= 11)	Fluorescencia +++ (n= 79)
Rango	85	194	1717
Media	40.29	75.45	253.34
Desviación estándar	30.47	59.12	352.55

Cuadro No. 3 Concentración de CTC en huesos de cerdo ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

	Fluorescencia + (n=31)	Fluorescencia ++ (n=13)	Fluorescencia +++ (n=78)
Rango	2581	4147	34492
Media	502.10	1609.31	4538.53
Desviación estándar	588.47	1191.59	4666.96

Figura No. 1 Comparación de la fluorescencia y la concentración de CTC en cerdos

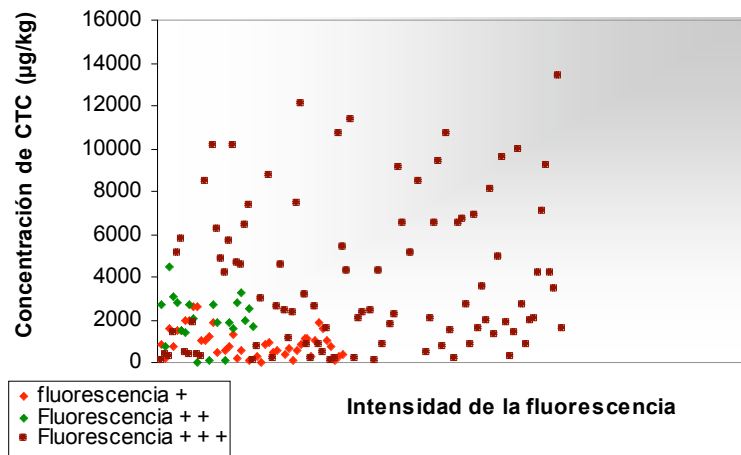


Figura No. 2 Comparación de la concentración y fluorescencia de TC en cerdos

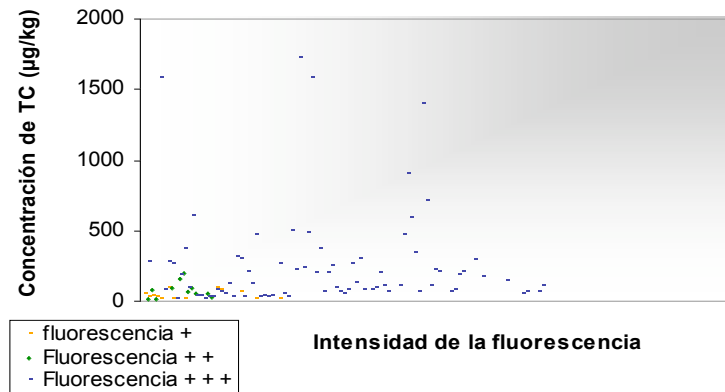
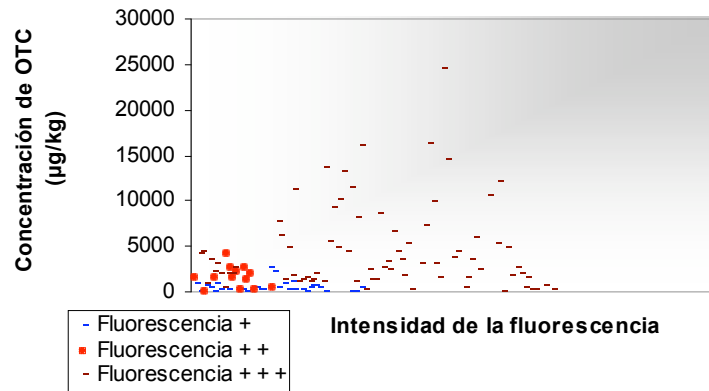


Figura No. 3 Comparación de la fluorescencia y concentración de OTC en cerdos

Discusión y conclusion

Las concentraciones de residuos de Tetraciclina variaron en un rango entre 6 y 24562 µg/kg. Los residuos que se encuentran con más concentración fueron los de Oxitetraclina, después Clortetraclina y luego Tetraciclina. Oka y cols. (2000) concluyen en su estudio que los compuestos mas frecuentemente se aplican a los animales de producción son OTC, TC, CTC. Por otro lado, Karbir y cols. (2004) en su estudio concluyeron que la Oxitetraclina es el compuesto mas utilizado. Estos residuos representan un riesgo potencial para la salud pública, ya que los huesos son utilizados para fabricar productos de consumo en humanos y animales. Honikel y cols. (1978) menciona que las tetraciclinas se agregan al alimento son absorbidas y se depositan en órganos, músculo y hueso en cantidades considerables. La concentración en tejidos declina después del retiro del antibiótico. Se requieren cerca de 2 semanas para reducir la concentración de Clortetraclina y Oxotetraclina a niveles no detectables. Solo con temperaturas arriba de 65° C se logra disminuir su concentración en carne. En hueso se requieren temperaturas de 140° C. Kühne y cols. (2001) menciona que los huesos sometidos a una temperatura de 133° C no logra la destrucción total de Tetraciclina, sólo se disminuye en aproximadamente un 50%.

En el presente estudio las concentraciones detectadas en los huesos de cerdo fueron altas. La mayoría de las muestras fueron positivas a más de un tipo de Tetraciclina. La mayor concentración correspondieron a la Oxitetraclina.