

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
POSTGRADO EN MEDICINA VETERINARIA



**DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE ANTIMICROBIANOS
RESTRINGIDOS EN RIÑÓN DE CERDOS BENEFICIADOS EN EL
ESTADO ARAGUA (PERÍODO OCTUBRE 2010 – MARZO 2011)**

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Magister Scientiarum en Medicina Veterinaria, mención Patología Veterinaria.**

M.V. JENNER DE JESÚS GUEVARA PÉREZ
MARACAY, MARZO DE 2012.



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



VEREDICTO

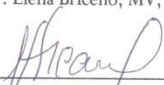
Quienes suscriben, miembros del jurado designado por el Consejo de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela, para examinar el **Trabajo de Grado** presentado por: **M.V. JENNER GUEVARA**, Cédula de identidad N° V- 7.104.349, bajo el título **"DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE ANTIMICROBIANOS RESTRINGIDOS EN RIÑÓN DE CERDOS BENEFICIADOS EN EL ESTADO ARAGUA (PERÍODO OCTUBRE 2010-MARZO 2011)"**, a fin de cumplir con el requisito legal para optar al grado académico de **MAGÍSTER SCIENTIARUM EN MEDICINA VETERINARIA, MENCIÓN PATOLOGÍA VETERINARIA**, dejan constancia de lo siguiente:

1.- Leído como fue dicho trabajo por cada uno de los miembros del jurado, se fijó el día quince (15) de marzo de 2012 a las 3:00 p.m., para que el autor lo defendiera en forma pública, lo que éste hizo en el Salón de Usos Múltiples de Postgrado, mediante un resumen oral de su contenido, luego de lo cual respondió satisfactoriamente a las preguntas que le fueron formuladas por el jurado, todo ello conforme con lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

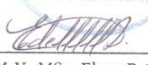
2.- Finalizada la defensa del trabajo, el jurado decidió **APROBARLO**, por considerar, sin hacerse solidario con la ideas expuestas por el autor, que se ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

Para dar este veredicto, el jurado estimó que el trabajo examinado aporta información importante en el área de Salud Pública al evidenciar la presencia de residuos de antimicrobianos de uso prohibido en Venezuela.

En fe de lo cual se levanta la presente ACTA, a los quince (15) días del mes de marzo del año 2012, conforme a lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado, actuó como Coordinadora del Jurado la Prof. Elena Briceño, MV, MSc.


MV, MSc. Elías Ascanio
C.I. No. 3.934.062
FCV-UCV


MV, MSc. Morella de Rolo
C.I. No. 4.223.762
I.N.I.A.


M.V. MSc. Elena Briceño
C.I. No. 4.958.367
FCV-UCV
Tutora

EA/MR/EB
15/03/2012

DEDICATORIA.

A MIS PADRES

A MI ESPOSA

AGRADECIMIENTOS.

A la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela por haberme formado y permitirme ser miembro de su cuerpo profesoral.

Al CDCH-UCV por sufragar la carga académica del programa de estudios de maestría.

A mi Tutora, Profesora Elena Briceño y a los miembros del Comité Asesor, Profesores Darwin Arrieta y Sonia Puche por su apoyo y contribución en la elaboración de esta tesis.

A las Dras. Efigenia Rondón y Lysaris Escalante de Plumrose Latinoamericana C.A. por su apoyo logístico.

Al Dr. José Riera y la Lic. Alexandra Veristegui de SEDICOMVET C.A. por su colaboración en el análisis de las muestras.

A la Profesora Isis Vivas por su valiosa colaboración en el análisis estadístico de los resultados.

Al Abogado Juan Carlos Lara y la Profesora Luz Elena Camargo por su constante estímulo.

A los profesores y personal administrativo de la Cátedra de Medicina Poblacional de la FCV-UCV por su amistad e incondicional apoyo siempre brindado.

RESUMEN.

Cloranfenicol y dimetridazol son antimicrobianos a los cuales no se les ha podido fijar un límite máximo de residuos (LMR), por lo que su uso en animales cuyo fin es el consumo humano está prohibido motivado a las consecuencias adversas que éstos producen (Stolker y Brinkman, 2005), como las discrasias sanguíneas en el caso del cloranfenicol, una reacción adversa fatal, aún en concentraciones subterapéuticas (Kunesh, 1986), que provoca una forma rara, pero a menudo letal, de aplasia de la médula ósea que lleva a la pancitopenia (Goodman et al., 1990; Smith y Reynard, 1993) y los efectos carcinogénicos, mutagénicos y tóxicos que induce el dimetridazol (Stolker y Brinkman, 2005).

El objetivo principal de esta investigación fue determinar la presencia de residuos de estos antimicrobianos en riñones de cerdos beneficiados en el Estado Aragua, provenientes de granjas intensivas de los estados Aragua y Carabobo, durante el período Octubre 2010 – Marzo 2011.

La detección de residuos de cloranfenicol y dimetridazol se efectuó mediante la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), por el método sugerido por Bele et al. (2007).

Los resultados evidencian la presencia de residuos de cloranfenicol y dimetridazol por encima de los límites establecidos por las instituciones nacionales e internacionales (*Codex Alimentarius*, FAO/OMS, FDA, EMEA), en 45% y 30% del total de granjas evaluadas, respectivamente.

El promedio de los niveles detectados de residuos de cloranfenicol y dimetridazol en las muestras de riñón de los cerdos provenientes de las

granjas establecidas en el estado Carabobo fue superior ($P < 0,05$) a las procedentes del estado Aragua.

Estos resultados ponen de manifiesto la comercialización de productos comestibles de origen animal con presencia de antimicrobianos nocivos para la salud pública en Venezuela.

(Palabras clave: Cerdo, cloranfenicol, dimetridazol, residuos, riñón, HPLC).

ABSTRACT.

Chloramphenicol and dimetridazol are antimicrobials which they have not been able to set a maximum limit of residues (MRLs), so its use in animals, whose aim is for human consumption is prohibited due to the adverse effects they produce (Stolker and Brinkman, 2005), as blood discrasias in the case of chloramphenicol, a fatal adverse drug reaction even in subtherapeutic concentrations (Kunesh, 1986), which causes a rare form, but often lethal, aplasia of bone marrow that leads to the pancytopenia (Goodman et al., 1990; Smith and Reynard, 1993) and carcinogenic, mutagenic and toxic effects that is induced by dimetridazol (Stolker and Brinkman, 2005).

The main objective of this research was to determine the presence of residues of these antimicrobials in kidneys from slaughter pigs from intensive farms in Aragua and Carabobo States, during the October 2010 - March 2011 period.

The detection of chloramphenicol and dimetridazol residues were carried out by liquid chromatography of high resolution (HPLC) technique, the method suggested by Bele et al. (2007).

The results show the presence of residues of chloramphenicol and dimetridazol above the limits established by national and international institutions (*Codex Alimentarius* Commission, FAO/OMS, FDA, EMEA), in 45% and 30% of the total of evaluated farms, respectively.

The detected levels of chloramphenicol and dimetridazol residues in the samples of kidney from pigs from Carabobo State farms averaged higher ($P < 0,05$) than pigs coming from Aragua State farms.

These results demonstrate the marketing of edible products of animal origin with the presence of antimicrobial harmful to public health in Venezuela.

(Keywords: pig, chloramphenicol, dimetridazol, kidney, residues, HPLC).

ÍNDICE DE CONTENIDO.

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vii
ÍNDICE DE CONTENIDO	ix
ÍNDICE DE CUADROS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1.- Objetivo General	4
1.2.- Objetivos Específicos	4
2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1.- Antecedentes	5
2.2.- Bases Teóricas	7
2.2.1.- Residuo Medicamentoso	7
2.2.2.- Clasificación de Tóxicos Alimentarios	9
2.2.3.- Antimicrobiano	9
2.2.4.- Período de Espera	11
2.2.5.- Nivel de Tolerancia	12
2.2.6.- Regulación Internacional de Fármacos de Uso Veterinario	13

2.3.- Cloranfenicol	16
2.3.1.- Fuente	17
2.3.2.- Propiedades	17
2.3.2.1.- Físicas	17
2.3.2.2.- Químicas	18
2.3.3.- Mecanismo de Acción	18
2.3.4.- Espectro de Actividad	19
2.3.5.- Resistencia	20
2.3.6.- Administración, Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción	20
2.3.7.- Interacciones Medicamentosas	22
2.3.8.- Efectos Adversos	22
2.3.9.- Residuos	23
2.3.10.- Resistencia	24
2.4.- Dimetridazol	24
2.4.1.- Fuente	24
2.4.2.- Propiedades Químicas	25
2.4.3.- Espectro de Actividad	25
2.4.4.- Mecanismo de Acción	26
2.4.5.- Farmacocinética	27
2.4.6.- Efectos Adversos	27
2.4.7.- Residuos	27
2.5.- Metodologías para determinar residuos de fármacos	28
2.5.1.- Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento	29

3.- MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1.- Tipo de Investigación	33
3.2.- Población	33
3.3.- Muestras	33
3.4.- Procesamiento de las Muestras	34
3.4.1.- Equipos y Materiales	35
3.4.2.- Reactivos y Standars	35
3.4.3.- Procedimiento	36
3.4.4.- Cálculos	36
3.4.5.- Sensibilidad del Método	37
3.5.- Técnicas de Presentación de los Datos y Análisis Estadístico de los Resultados	37
4.- RESULTADOS	38
5.- DISCUSIÓN	45
6.- CONCLUSIONES	50
7.- RECOMENDACIONES	51
8.- BIBLIOGRAFÍA	52

ÍNDICE DE CUADROS.

Cuadro 1.- Niveles de Cloranfenicol y Dimetridazol detectados en muestras de riñón de cerdos procedentes de granjas porcinas del Estado Aragua, período Octubre 2010 – Marzo 2011.	38
Cuadro 2.- Niveles de Cloranfenicol y Dimetridazol detectados en muestras de riñón de cerdos procedentes de granjas porcinas del Estado Carabobo, período Octubre 2010 – Marzo 2011.	40
Cuadro 3.- Total de granjas porcinas detectadas con residuos de cloranfenicol de acuerdo a la región de procedencia.	43
Cuadro 4.- Total de granjas porcinas detectadas con residuos de dimetridazol de acuerdo a la región de procedencia.	43
Cuadro 5.- Promedio de los niveles de residuos detectados de cloranfenicol en muestras de riñón de cerdos de acuerdo a la región de procedencia (Casos Positivos).	44

Cuadro 6.- Promedio de los niveles de residuos detectados de dimetridazol en muestras de riñón de cerdos de acuerdo a la región de procedencia (Casos Positivos).

44

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Fórmula Estructural del Cloranfenicol.	18
Figura 2. Fórmula Estructural del Dimetridazol.	25
Figura 3. Ejemplo de cromatograma con dos picos “resueltos”.	31
Figura 4.- Proporción de Granjas detectadas con residuos de Cloranfenicol y Dimetridazol en muestras de riñón de cerdos procedentes del Estado Aragua.	39
Figura 5.- Proporción de Granjas detectadas con residuos de Cloranfenicol y Dimetridazol en muestras de riñón de cerdos procedentes del Estado Carabobo.	41
Figura 6.- Proporción total de granjas porcinas detectadas con residuos de Cloranfenicol.	42
Figura 7.- Proporción total de granjas porcinas detectadas con residuos de Dimetridazol.	42

1.- INTRODUCCIÓN.

Los programas de control e higiene de los alimentos, han estado orientados primordialmente a disminuir el impacto negativo que ejercen sobre la salud de la población los factores de riesgos asociados a agentes bacterianos y parasitarios. Actualmente se agregan necesidades de conocimiento de nuevos agentes o factores de riesgos que amenazan dicha salud, ya sea por la incorporación de sustancias ajenas a los alimentos naturales, tales como los aditivos alimentarios, plaguicidas y fármacos veterinarios (Larrañaga et al., 1999).

La demanda de alimentos cada día más elevada, ha impuesto una mayor presión sobre los métodos de producción pecuarios. Al intensificarse la producción de proteína animal para consumo humano, cada vez es más importante el empleo de los medicamentos (Straw et al., 2006).

Los antimicrobianos constituyen uno de los grupos de medicamentos más utilizados en la industria pecuaria, éstos se han utilizado como suplementos alimentarios y agentes terapéuticos (Sumano y Ocampo, 1997). Su uso ha sido eficaz para incrementar la eficiencia en la conversión de los alimentos y la ganancia ponderal, principalmente en las aves y los cerdos, pero debido a su amplia utilización, es necesario disponer de un sistema de medición de los residuos que proteja al consumidor (Gracey, 1989). Para poder mantener la comercialización de productos cárnicos en el mercado japonés, por ejemplo, sus autoridades exigen la ausencia de residuos de antimicrobianos, con especial énfasis en las sulfonamidas en la carne de cerdo (Bermúdez-Almada et al., 2001).

La preocupación de los consumidores por la salubridad de los alimentos en general, y de los productos cárnicos en particular, refuerza la necesidad de efectuar la detección de los residuos químicos en los alimentos (Gracey, 1989).

El uso de antimicrobianos en animales está regulado por la legislación de muchos países. En los Estados Unidos está bajo la responsabilidad de la Food and Drug Administration (FDA) (Gracey, 1989). Venezuela se rige por las pautas dictadas por el *Codex Alimentarius*, organismo creado por la FAO y la OMS para definir las normas internacionales que sirvan de orientación a la industria alimentaria y que a su vez protejan la salud de los consumidores; el mismo está representado por un Comité Nacional permanente creado el 11 de Junio de 2001, publicado en Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela No. 37.237 (Portal Secamer).

Muchos antimicrobianos no deben ser usados cercanos al momento del beneficio de los animales para evitar residuos significantes en los productos cárnicos. El período de retiro varía con la droga y la dosis usada (Straw et al., 2006). El no aplicar un período de suspensión medicamentosa adecuado es muchas veces responsable de la presencia de residuos químicos en los animales de consumo (Gracey, 1989). Tal suspensión o retirada es esencial desde el punto de vista de la salud pública, puesto que la presencia de residuos de antimicrobianos en los alimentos, a concentraciones superiores a las legalmente permitidas, pueden dar lugar a trastornos cuando se consumen durante mucho tiempo (Booth y McDonald, 1987).

En la actualidad, por razones de calidad sanitaria, muchos países están prestando una especial atención en la detección y análisis de residuos, ocasionado por las crecientes presiones ejercidas sobre la exportación de

productos y subproductos porcinos a los mercados internacionales de alto consumo (Gracey, 1989).

El cloranfenicol y el dimetridazol son dos antimicrobianos a los cuales no se les ha podido fijar un límite máximo de residuos (LMR), por lo que su uso en animales cuyo fin es el consumo humano está prohibido motivado a las consecuencias adversas que éstos producen (Stolker y Brinkman, 2005). La excreción de ambos después de ser metabolizados ocurre sobre todo por la orina mediante filtración y secreción (Goodman et al., 1990; Botana et al., 2002).

Alvarado et al. (2008), señalan que en Venezuela para el año 2008 no existía mayor control en cuanto a la dosificación de los antimicrobianos de acuerdo a la especie animal, frecuencia de aplicación y cumplimiento del tiempo de retiro de los fármacos; menos aún servicios de inspección oficiales que vigilen la presencia de residuos y establezcan los límites máximos de residuos sugeridos.

Partiendo de esta premisa y tomando en cuenta la limitada evidencia científica existente en relación a estos dos antimicrobianos, considerando además que el consumo de cerdos o derivados de éstos con presencia de residuos de cloranfenicol y dimetridazol representa un riesgo a la salud pública, y que en los estados Aragua y Carabobo es donde se concentran el mayor número de granjas intensivas de cerdos en Venezuela, se plantea la ejecución de este trabajo, para el cual se proponen los siguientes objetivos:

1.1.- Objetivo General

Determinar la presencia de residuos de antimicrobianos restringidos en riñón de cerdos beneficiados en el Estado Aragua, durante el período Octubre 2010 – Marzo 2011.

1.2.- Objetivos Específicos

1.- Detectar y cuantificar residuos de cloranfenicol y dimetridazol en riñón de cerdos beneficiados en el Estado Aragua, provenientes de granjas intensivas de los Estados Aragua y Carabobo.

2.- Comparar los niveles de residuos de cloranfenicol y dimetridazol detectados en riñón de cerdos beneficiados en el Estado Aragua, provenientes de granjas intensivas de los Estados Aragua y Carabobo, con los límites establecidos por instituciones nacionales e internacionales (Codex Alimentarius, FAO/OMS, FDA, EMEA).

3.- Establecer diferencias entre los niveles de residuos de cloranfenicol y dimetridazol detectados en riñón de cerdos beneficiados en el Estado Aragua, de acuerdo a la región de su procedencia (Estados Aragua y Carabobo).

2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1.- Antecedentes

Salisbury et al. (1988), utilizando la técnica de cromatografía de gases, analizaron muestras de tejidos recolectados en una sala de matanza en Canadá entre los meses de agosto y septiembre de 1984, encontrado en 31 de 279 cerdos muestreados (11%), residuos de cloranfenicol en rangos desde 1 ppb hasta 5727 ppb.

Mota (1994), en un estudio para la detección de residuos de antimicrobianos en carne fresca de cerdo en Venezuela, realizado en 154 cerdos a nivel de un matadero industrial, analizó 300 muestras de órganos y tejido animal, por modificación a la metodología S.T.O.P. (Swab test on Premises) o Prueba de la Torunda en el establecimiento, que consistió en sustituir el empleo de los hisopos, por trozos de tejido, obteniendo 86 muestras positivas al análisis de detección de residuos de antimicrobianos, correspondiendo 58 muestras a tejido de hígado, 20 a tejido de riñón y 8 a tejido muscular, lo cual representó el 28.66% del total de las muestras analizadas.

Bermudez-Almada et al. (2001), analizaron los niveles de residuos de sulfonamidas de 1635 muestras de músculo de porcinos entre 1993 y 1999, colectados en mataderos industriales del noroeste de México, mediante un ensayo microbiológico rápido (Charm II) y su confirmación por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Los resultados obtenidos mediante la prueba Charm II, mostraron que el 6,1% de las muestras estuvieron contaminadas con sulfonamidas y 21 de ellas (1,3%) presentaron niveles

violatorios de acuerdo a la norma oficial mexicana, que establece un límite máximo de residuos (LMR) permitidos para sulfonamidas de 0,1 µg/g. Al realizar la confirmación mediante HPLC, de las muestras con presencia de sulfonamidas, las sulfonamidas identificadas fueron sulfatiazol y sulfametazina.

Vásquez-Moreno et al. (2002), utilizando el ensayo biológico Charm II, efectuaron un estudio de residuos tóxicos en tejidos animales destinados al consumo, detectando en 4 muestras de músculo, 2 de riñón y 1 de hígado, niveles de cloranfenicol por arriba de la tolerancia según la Norma Oficial Mexicana, la cual es cero (0), siendo el valor registrado en riñón de cerdo de 0,018 µg/g.

González et al. (2004), determinaron mediante la técnica de ELISA la presencia de residuos de tetraciclinas y sulfametazina en tejido renal y hepático de cerdos de la región central de Venezuela. El 4% de tejido hepático y el 14 % de tejido renal resultaron positivos a residuos de tetraciclinas; un 54% de tejido hepático y 25% de tejido renal presentaron residuos de sulfametazina.

Medina et al. (2008), investigaron la presencia de residuos de antimicrobianos en tejidos y tetraciclinas en huesos de cerdos en México. El estudio se realizó en tres etapas por dos métodos diferentes. La primera etapa tuvo como propósito investigar la frecuencia de cerdos positivos a tetraciclinas y arrojó que de 277 canales examinadas 47% fueron positivas. En la segunda, se realizó la detección visual por fluorescencia en muestras de fémur, húmero y costilla de cerdos. De las 172 muestras de hueso analizadas 81% fueron positivas a tetraciclinas. En la tercera, se investigó la presencia de residuos de antimicrobianos en tejidos por el método

microbiológico de las tres placas. De los 62 cerdos estudiados, 50% fueron positivos, 27,4% negativos y 22,6% dudosos. Así mismo, estas muestras resultaron 41,9%, positivas en riñón, en músculo 54,8% y en hígado 66,1%. Los resultados obtenidos indicaron que es elevado el porcentaje de animales donde se detectaron tetraciclinas y sustentan que el envío al matadero de animales con residuos de antimicrobianos es frecuente.

Briceño et al. (2010), utilizando la técnica de ELISA, demostraron la presencia de residuos de cloranfenicol en el 17% de las muestras de riñón de cerdos recolectadas (5 de 30 granjas), con valores entre 13,6 a 42,9 ng/Kg, confirmando la sospecha de que en Venezuela se está utilizando el cloranfenicol en forma ilegal, pues este antibiótico está prohibido en nuestro país desde 1988 (Resolución 34.100 del Ministerio de Agricultura y Cría) y ningún límite máximo de residuos ha sido establecido, siendo cero (0) su nivel de tolerancia. Estos resultados sugieren la inexistencia de controles rigurosos sobre la administración de antimicrobianos y tiempo de retiro de los mismos en nuestro país.

2.2.- Bases Teóricas

2.2.1.- Residuo Medicamentoso

Un residuo medicamentoso o químico, se define como el producto madre, sus metabolitos y sus productos de descomposición (o cualquier combinación de los mismos), que como consecuencia de su empleo como medicamento o sustancia en el control y tratamiento de las enfermedades animales o de su inclusión como aditivo en el alimento para promover el crecimiento y mejora de la eficacia del mismo, puede depositarse o almacenarse en células, tejidos u órganos del animal (Booth y McDonald, 1987). Los residuos de

drogas de uso veterinario o sus metabolitos, si persisten en niveles no aceptables en carnes u otros alimentos de origen animal, pueden causar efectos tóxicos adversos sobre la salud de los consumidores (Anadón y Martínez-Larrañaga, 1999; Stolker y Brinkman, 2005; Reig y Toldrá, 2008). Se alcanza un nivel inaceptable de residuo cuando la concentración de un compuesto en los tejidos excede la tolerancia establecida (Gracey, 1989). Los límites máximos de residuos (LMR) o concentración máxima de residuo que puede aceptarse en un alimento como resultado del uso de un medicamento veterinario en animales destinados al consumo humano son fijados en partes por millón (ppm o mg/Kg) o inclusive en partes por billón (ppb o $\mu\text{g/kg}$) de peso fresco. Un residuo se considera ilegal cuando supera la tolerancia o límite máximo permitido en un determinado tejido (músculo, hígado, riñón, grasa, piel, huevos, leche y miel), o cuando existe en cualquier cantidad si no se ha establecido tolerancia para tal residuo (Botana *et al.*, 2002). Residuos por debajo de límites fijados son considerados seguros (Blasco *et al.*, 2007).

Siempre que los compuestos se utilicen de acuerdo con las recomendaciones establecidas (dosis adecuada, ruta de administración, especie animal y tiempo de suspensión adecuado antes del sacrificio), no debe existir una concentración significativa de residuos en los alimentos (Gracey, 1989).

En algunos casos los compuestos químicos no se encuentran en la carne, pudiéndose concentrar en órganos como el hígado o los riñones (Gracey, 1989). La concentración de residuos medicamentosos varía mucho de tejido a tejido; en los animales, los residuos permanecen más tiempo en órganos de biotransformación o excreción activa como el hígado y el riñón (Booth y McDonald, 1987; Repetto, 1995). Estos órganos, juntos con la grasa y la

carne, se utilizan normalmente para analizar la presencia de residuos (Gracey, 1989), sin embargo, una desventaja es que para su análisis hay que esperar el beneficio del animal (Reig y Toldrá, 2008).

El riñón ha sido considerado como el órgano blanco para efectuar la detección de residuos de antimicrobianos en animales productores de alimento para consumo humano, ya que el tejido renal contiene altas concentraciones de muchos de los antimicrobianos utilizados en el campo (De Brabander et al., 2009).

2.2.2.- Clasificación de Tóxicos Alimentarios

De acuerdo con sus orígenes, los tóxicos alimentarios se pueden clasificar en cuatro grandes grupos: 1) Constituyentes tóxicos naturales; 2) Contaminantes biológicos y químicos; 3) Aditivos alimentarios y 4) Sustancias derivadas. Entre los contaminantes químicos se tienen las sustancias inorgánicas como metales y aniones y las sustancias orgánicas como plaguicidas y medicamentos de uso veterinario como anabolizantes, antimicrobianos, tranquilizantes y hormonas (Repetto, 1995).

2.2.3.- Antimicrobiano

Un antimicrobiano se define como una sustancia química producida total o parcialmente por microorganismos (normalmente hongos o bacterias) o sintéticamente, el cual tiene la capacidad de inhibir el crecimiento o destruir bacterias y otros microorganismos (Gracey, 1989). El uso de los antimicrobianos en medicina veterinaria comenzó en la década de los 50 con la utilización de la oxitetraciclina y la clortetraciclina como aditivos en el alimento. Hoy, muchas clases de antimicrobianos son usados ampliamente

para la prevención y tratamiento de diversas enfermedades, así como para la promoción del crecimiento en animales destinados a la producción de alimentos (Di Corcia y Nazzari, 2002). Las más importantes familias de antimicrobianos son las betalactamasas, tetraciclinas, sulfonamidas, aminoglucósidos, macrólidos, lincosamidas, quinolonas, nitroimidazoles, nitrofuranos y el cloranfenicol, siendo este último clasificado como misceláneo (Kennedy et al., 1998; De Brabander et al., 2009).

Los antimicrobianos se usan con fines terapéuticos para la prevención de enfermedades de los animales, o a concentraciones subterapéuticas, con la finalidad de favorecer el crecimiento del animal, dada su actividad sobre la flora intestinal. Tanto en un caso como en otro, si los alimentos se consumen sin dar tiempo a que se eliminen los residuos de antimicrobianos, pueden surgir problemas de salud, en especial con la carne, leche y huevos. Estos problemas se materializan en la posibilidad de que aparezca sensibilización frente al antimicrobiano utilizado en el animal (es el caso frecuente de la penicilina) o resistencias bacterianas por el uso de dosis subterapéuticas (Larrañaga et al., 1999).

Varios factores influyen en la probabilidad de reacciones alérgicas a los medicamentos. La respuesta inmunitaria de los individuos depende de factores genéticos, factores metabólicos, dosis, vía de administración, vehículo, coadyuvantes, etc. Así, las reacciones anafilácticas son menos frecuentes tras administración oral que por administración intravenosa o intramuscular. Los vehículos que retrasan la absorción del medicamento pueden aumentar la probabilidad de sensibilización o de respuesta alérgica. Los residuos tienen más efectos en personas previamente sensibilizadas. Las reacciones alérgicas o de hipersensibilidad, pueden variar desde dermatitis por contacto y otras reacciones en la piel, desórdenes del sistema

hematopoyético como anemia hemolítica, agranulocitosis, anemia aplásica, trombocitopenia, eosinofilia, hasta shock anafiláctico fatal (Repetto, 1995).

2.2.4.- Período de Espera

El uso de los antimicrobianos en la producción porcina ha sido una herramienta útil y económica para la prevención y control de enfermedades, así como para mejorar el rendimiento de los cerdos, sin embargo, es imperativo que éstos sean usados apropiadamente (Rueff, 2005).

En forma general, el alimento y el agua de bebida son los principales vehículos utilizados para el uso de los antimicrobianos, ya sea como promotores del crecimiento o para prevenir enfermedades. La inyección es la ruta de elección de los productores para el uso de los antimicrobianos cuando ya las enfermedades están clínicamente presentes (Bush y Biehl, 2002).

El período de espera, es el intervalo de tiempo desde la última administración del medicamento a la especie de destino, en condiciones normales de uso, hasta que los tejidos destinados al consumo humano alcanzan niveles iguales o inferiores al límite máximo de residuos fijado (Botana et al., 2002). Los períodos de espera o plazos de tiempos establecidos desde la administración de un producto y el sacrificio y consumo del animal a objeto de eliminar los residuos peligrosos para los seres humanos al consumir carne, leche o huevos procedentes de animales tratados, se establecen de acuerdo con las investigaciones toxicocinéticas de los diferentes productos, viendo los niveles de residuos en varios tejidos, analizando plasma u orina de los animales (Repetto, 1995); ésto debido a que los tiempos de suspensión varían para cada preparación farmacéutica y entre especies,

pudiendo ir desde unas horas o días, hasta semanas. Este intervalo de tiempo, es el necesario para que el residuo potencialmente tóxico alcance la concentración inocua exigida por la tolerancia (Booth y McDonald, 1987).

2.2.5.- Nivel de Tolerancia

El nivel de tolerancia es la concentración o nivel máximo permitido de un medicamento o producto químico en un pienso o alimento, en un momento dado del sacrificio, de la recolección, del procesado, del almacenamiento y de la venta de ese pienso o alimento, hasta el momento de su consumo por el animal o por el hombre (Booth y McDonald, 1987). Las tolerancias se establecen con base a los resultados de estudios toxicológicos, metabólicos y de mutagenicidad, realizados normalmente en ratas y ratones, no significando necesariamente que sea peligroso sobrepasar la cantidad establecida para una tolerancia, sino que es innecesario hacerlo (Gracey, 1989).

Existen tres tipos de tolerancias importantes para definir las concentraciones permitidas de residuos medicamentosos: la tolerancia finita o permitida, la tolerancia despreciable y la tolerancia cero. La tolerancia finita se define como la cantidad medible de residuo medicamentoso o producto químico (no cancerígeno) permitida en el alimento. La tolerancia despreciable es la cantidad de residuo toxicológicamente insignificante que da lugar a una ingesta diaria que es una pequeña fracción de la máxima ingesta o aporte diario aceptable (dosis diaria de residuos medicamentosos o químicos que pueden consumirse durante la vida de un individuo sin riesgo apreciable alguno para su salud). Finalmente, la tolerancia cero, se establece basándose en que no se permite residuo alguno en el pienso o alimento debido a la extrema toxicidad o debido a que la sustancia es cancerígena,

por lo que no se deben permitir en los animales productores de alimentos, residuos en los tejidos comestibles en el momento de su sacrificio (Booth y McDonald, 1987).

Entre algunas de las sustancias farmacológicamente activas a las cuales no se les puede fijar un LMR, o tienen un nivel de tolerancia cero (0), estando prohibida su comercialización en muchos países, ya que representan riesgo para la salud humana, se tiene al cloranfenicol y a los nitroimidazoles, entre ellos el dimetridazol, sustancias ubicadas en el anexo IV del Consejo de Regulación de drogas de uso veterinario de la Comunidad Europea (Stolker y Brinkman, 2005).

La Unión Europea establece una lista (Anexos I, II, III, IV), para clasificar las sustancias farmacológicamente activas:

Anexo I: sustancias farmacológicamente activas para las cuales se han fijado LMR definitivos.

Anexo II: sustancias farmacológicamente activas las cuales no precisan la fijación de LMR, porque se eliminan muy rápidamente, porque son sustancias endógenas, porque no se absorben, etc.

Anexo III: sustancias farmacológicamente activas para las que se han fijado LMR provisionales.

Anexo IV: sustancias farmacológicamente activas para las que no se pueden fijar LMR ya que plantean riesgo para la salud humana (Botana et al., 2002).

2.2.6.- Regulación Internacional de Fármacos de Uso Veterinario

Para minimizar la exposición de los humanos a los antimicrobianos utilizados en animales productores de alimento, han sido establecidos niveles de tolerancia (Di Corcia y Nazzari, 2002), pero la legislación puede variar considerablemente de un país a otro, por lo que no hay una guía clara para medir los límites residuales máximos permitidos, dificultando de esta manera la interpretación de los resultados (Blasco *et al.*, 2007).

La regulación de medicamentos de uso veterinario se orienta a controlar el uso y residualidad de estas sustancias en las especies en las cuales son administradas; estos aspectos son mundialmente vigilados por diferentes organizaciones, dentro de las cuales se destacan: 1) la comisión del *Codex Alimentarius*, creada por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1963, que se encarga de proteger la salud de los consumidores, facilitar prácticas justas en el comercio de alimentos y promover la coordinación de normas alimentarias acordadas por diversas organizaciones; 2) el Programa Internacional de Seguridad de las Sustancia Químicas (IPCS, por sus siglas en inglés) establecido por la OMS, la Organización Internacional del Trabajo (OIT) y el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), que establece bases científicas para el uso seguro de los químicos; 3) el Comité mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) que proporciona asesoramiento científico mediante la publicación de monografías y reportes técnicos acerca de la inocuidad de los aditivos alimentarios, la evaluación de los contaminantes, las sustancias tóxicas naturales y los residuos de medicamentos veterinarios; 4) la administración de alimentos y drogas de los Estados Unidos (Food and Drug Administration - FDA) que además de regular la fabricación y

distribución de los medicamentos de uso veterinario a través del CVM (Centro de Medicina Veterinaria), protege la salud de los consumidores garantizando la seguridad de los aditivos alimentarios, productos cosméticos y medicamentos de uso humano y veterinario; 5) la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) cuya misión principal es proteger y promover la salud pública y animal mediante diversas actividades, entre ellas el establecimiento de límites de seguridad para los residuos de medicamentos veterinarios en animales productores de alimentos; 6) la Autoridad Australiana en Pesticidas y Medicina Veterinaria (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority - APVMA) responsable de la evaluación, registro y regulación de plaguicidas y medicamentos veterinarios; y 7) la Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) que participa activamente en la evaluación del riesgo asociada a alimentos (Lozano y Arias, 2008).

El cloranfenicol en la normativa europea (EMA) y norteamericana (FDA) es regulado mediante un valor específico de “cero tolerancia” (Montoya, 2002).

Tanto el cloranfenicol como el dimetridazol han sido prohibidos en Europa, estando ambos incluidos en el Anexo IV del Consejo de Regulación de drogas de uso veterinario de la Comunidad Europea, ya que son sustancias farmacológicamente activas a las cuales no se les puede fijar LMR ya que plantean riesgo para la salud humana, lo que significa que cualquier residuo de éstos que se encuentre en alimentos producidos por animales destinados al consumo humano es considerado como una violación a las regulaciones (Stolker y Brinkman, 2005). Su uso también ha sido prohibido por la FDA en los Estados Unidos (Kunesh, 1986; Sumano y Ocampo, 1997).

En Venezuela, el uso del cloranfenicol está prohibido en las especies animales (bovinos de carne y de leche, ovinos, cerdos, aves, conejos y peces) cuyos productos están destinados al consumo humano, según resolución No. 549 de fecha 21-11-1988 del Ministerio de Agricultura y Cría, actual Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (Gaceta Oficial de la República de Venezuela, 22-11-1988).

2.3.- Cloranfenicol

El cloranfenicol fue el primer antimicrobiano de amplio espectro con actividad contra bacterias gram positivas y gram negativas, así como contra algunas especies no bacterianas del que dispuso la medicina (Smith y Reynard, 1993). Fue aislado por primera vez en 1947 por Burkholder, botánico de la Universidad de Yale, de una muestra de suelo tomada en Venezuela (Goodman et al., 1990; Sumano y Ocampo, 1997). Debido a que contiene cloro y se obtuvo de un actinomiceto inicialmente se le denominó cloromicetín (Fuentes, 1985; Goodman et al., 1990). A fines de 1947, una pequeña cantidad disponible de cloranfenicol se empleó en un brote de tifus epidémico en Bolivia con resultados notables. Luego se ensayó con gran éxito en casos de tifus de los matorrales en la península de Malasia (Goodman et al., 1990). Para 1948 se empezó a producir en cantidades industriales para su uso en la clínica terapéutica probando su valor contra una gran variedad de enfermedades infecciosas (Fuentes, 1985). Fue aclamado como la maravilla farmacológica del siglo, sin embargo, en poco tiempo (1950), se descubrió que algunos seres humanos tratados con cloranfenicol morían por anemia aplásica (Smith y Reynard, 1993), debido a que se deprime la función hematopoyética de la médula ósea (Booth y McDonald 1987).

En muchos países se ha prohibido su uso en animales de consumo por los residuos que puede generar y las resistencias cruzadas con el ser humano (Sumano y Ocampo, 1997), sin embargo, parece improbable que pueda aparecer anemia aplásica en los animales domésticos debido a que la mayoría de las terapias con cloranfenicol en ellos son de corta duración (Booth y McDonald 1987). Se reserva su uso para unas pocas infecciones concretas en animales de compañía, especialmente perros y gatos, cuando no existen otros antimicrobianos eficaces (Botana et al., 2002).

2.3.1.- Fuente

Fue obtenido por vez primera de una bacteria del suelo de la familia de los [actinomicetales](#), [Streptomyces venezuelae](#), más tarde se elaboraría a partir de otras especies de *Streptomyces*, en la actualidad se produce por síntesis química (Meyer, 1975; Botana et al., 2002).

2.3.2.- Propiedades

2.3.2.1.- Físicas

El cloranfenicol es un polvo fino, cristalino, blanco, aunque a veces presenta un color grisáceo o amarillento. Tiene sabor amargo y es poco soluble en agua (1:400), pero se solubiliza en la mayor parte de los disolventes orgánicos. Es muy termoestable, resiste cuando menos 5 horas de ebullición. El pH fuertemente alcalino (≥ 10) lo descompone rápidamente. En diversos ensayos, se recuperó más del 95% del cloranfenicol de leches hervidas, procesadas para dulces y en carnes preparadas para embutidos. Esto significa que los residuos de cloranfenicol resisten cualquier proceso de preparación (Sumano y Ocampo, 1997).

2.3.2.2- Químicas

El cloranfenicol tiene una estructura relativamente simple, con un anillo de nitrobenzeno, un grupo amida y la característica de poseer dos átomos de cloro (Botana *et al.*, 2002), es producido por síntesis química, en contraste con muchos otros antimicrobianos que son productos intermedios del crecimiento de mohos (Smith y Reynard, 1993). El cloranfenicol es un derivado del ácido dicloroacético constituido por un grupo nitroaromático en su molécula, siendo el único producto químico de origen natural que contiene este grupo. Se define como D-(-)-treo-2-dicloroacetamido-1-p-nitrofenil-1,3 propanodiol (Goodman *et al.*, 1990). (Figura 1).

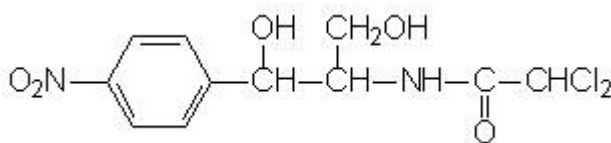


Figura 1. Fórmula Estructural del Cloranfenicol.

La actividad antibacteriana la proporciona el grupo D-treopropanediol, y el grupo aromático posiblemente represente la porción tóxica de la molécula (Sumano y Ocampo, 1997), puesto que da lugar a la formación de aminas aromáticas que pueden ser carcinógenas (Botana *et al.*, 2002)

2.3.3.- Mecanismo de Acción

El cloranfenicol inhibe la síntesis de proteínas en las bacterias y, en menor grado, en las células eucarióticas (Goodman *et al.*, 1990); es un fármaco que penetra las células bacterianas por difusión facilitada, uniéndose en forma reversible a la subunidad 50S de los ribosomas de las especies

susceptibles e inhibe a la enzima peptidil transferasa que forma parte de los ribosomas (Smith y Reynard, 1993). La inhibición de la síntesis proteica se da por el bloqueo en la incorporación de aminoácidos en las cadenas polipeptídicas en proceso de formación (Sumano y Ocampo, 1997). Puesto que la inhibición de esta enzima es reversible, el cloranfenicol y sus derivados actúan como bacteriostáticos (Botana et al., 2002).

El cloranfenicol también puede bloquear la síntesis de proteínas mitocondriales en las células de los mamíferos (Sumano y Ocampo, 1997).

2.3.4.- Espectro de Actividad

El cloranfenicol tiene un gran espectro de actividad contra bacterias y rickettsias, siendo usado ampliamente en animales y humanos (Di Corcia y Nazzari, 2002). Es un antimicrobiano activo contra una gran variedad de patógenos, aerobios y anaerobios, grampositivos o gramnegativos (Kennedy et al., 1998); es básicamente bacteriostático, aunque puede ser bactericida para ciertas especies como la *H. influenzae* (Goodman et al., 1990). Posee gran actividad contra una amplia variedad de infecciones patógenas, inhibiendo a bacterias tales como *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Pasteurella*, *Bordetella* y *Haemophilus*, microorganismos coliformes, clamidias y rickettsias (Kunesh, 1986; Sumano y Ocampo, 1997).

La sensibilidad de las bacterias in vitro es paralela a la sensibilidad de las bacterias in vivo (Fuentes, 1985).

Las cepas se consideran sensibles si son inhibidas por concentración de 12,5 µg/ml o menos (Goodman et al., 1990).

2.3.5.- Resistencia

Algunas bacterias gram negativas han creado resistencia debido a la presencia de un factor específico adquirido por conjugación (plásmido), el cual es una acetiltransferasa específica que inactiva al cloranfenicol utilizando acetil coenzima A como donador del grupo acetil (Goodman *et al.*, 1990; Sumano y Ocampo, 1997). En general, la producción de resistencia in vivo no constituye un problema excepto de las bacterias entéricas (Fuentes, 1985).

2.3.6.- Administración, Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción

El cloranfenicol es un compuesto no ionizado y altamente liposoluble. Puede administrarse vía oral, intramuscular y tópica (Fuentes, 1985). Se administra oralmente como cloranfenicol, la droga activa propiamente dicha, o como palmitato de cloranfenicol, la prodroga inactiva (Goodman *et al.*, 1990). El éster de palmitato es hidrolizado por las lipasas pancreáticas a fármaco libre en el intestino (duodeno), desde donde se absorbe el cloranfenicol. Debido a que el cloranfenicol no es muy soluble en agua, para su uso vía parenteral (intravenosa o intramuscular) se presenta como éster de succinato inactivo. El éster inactivo es hidrolizado al fármaco libre en diversos tejidos del cuerpo (Booth y McDonald, 1987). El fármaco se distribuye muy bien en la mayoría de los tejidos del organismo, inclusive el líquido cefalorraquídeo, en presencia o ausencia de meningitis, por lo que su uso en humanos está restringido sólo para este tipo de infecciones severas, así como para tifus y fiebre tifoidea (Smith y Reynard, 1993). En los animales domésticos, su absorción supera el 90% en la mayoría de las especies excepto en becerros prerumiantes, quienes tienen una absorción más limitada. El cloranfenicol

administrado por vía oral en rumiantes es destruido por la microflora ruminal, resultando escasa su absorción neta (Sumano y Ocampo, 1997).

La distribución del cloranfenicol a través del cuerpo es rápida, obteniéndose altas concentraciones en hígado, bilis y riñones (Meyer, 1975). Administrado por vía oral en perros, produce buena concentración plasmática en 30 minutos y alcanza un máximo en dos horas (Fuentes, 1985). De acuerdo a la especie, la vida media del cloranfenicol varía desde las 0,9 horas en los équidos hasta las 5-6 horas en los gatos (Botana *et al.*, 2002). El fármaco penetra al cerebro, líquido cefalorraquídeo, bilis, orina, leche, humor acuoso, atraviesa la placenta y alcanza concentraciones en el feto similares a las del suero de la madre. El cloranfenicol tiende a acumularse en los tejidos en concentraciones más altas y por tiempo más prolongado que en el suero, lo que es benéfico en los tratamientos (Sumano y Ocampo, 1997).

El cloranfenicol es metabolizado principalmente por reducción del grupo nitro y conjugación glucurónica. En animales recién nacidos, existe deficiencia de las enzimas que favorecen su metabolismo, por lo que en estos animales se prolonga su efecto, debiéndose reducir la dosis para prevenir su acumulación y toxicidad. Se ha sugerido que la mayor parte del cloranfenicol y sus metabolitos son eliminados por la vía biliar, que se reabsorben por el intestino y pasan a la circulación sanguínea (ciclo enterohepático) (Sumano y Ocampo, 1997).

Después de ser metabolizado el cloranfenicol, su excreción ocurre sobre todo por la orina mediante filtración y secreción (Goodman *et al.*, 1990), pudiendo alcanzar una concentración hasta 20 veces mayor que en el plasma (Fuentes, 1985); también puede excretarse a través de las heces (Sumano y Ocampo, 1997).

Debido a la extensa biotransformación del fármaco en metabolitos inactivos, sólo cerca del 10% del cloranfenicol administrado se excreta en la orina como antibiótico activo (fármaco sin cambio). También se ha observado que buena parte del cloranfenicol se elimina por la leche (Sumano y Ocampo, 1997).

En vista de su probada toxicidad para el ser humano, debe utilizarse únicamente en caso de que no existan antimicrobianos alternativos eficaces (Botana *et al.*, 2002).

2.3.7.- Interacciones Medicamentosas

El cloranfenicol inhibe en forma irreversible las enzimas microsomales hepáticas del complejo citocromo P-450, por lo tanto puede prolongar la vida media de las drogas metabolizadas por este sistema, especialmente la de los barbitúricos (Botana *et al.*, 2002). Estas drogas incluyen dicumarol, fenitoína, clorpropamida y la tolbutamida, lo que produce que estos fármacos incrementen su potencial toxicidad. A la inversa, otras drogas pueden alterar la eliminación del cloranfenicol. La administración crónica de fenobarbital abrevia la vida media del antimicrobiano, presumiblemente por inducción enzimática, pudiendo producir concentraciones subterapéuticas de la droga (Goodman *et al.*, 1990). No debe administrarse tampoco simultáneamente con ionóforos como la monensina o el lasalocid, ya que puede provocar degeneración muscular en algunas especies (Botana *et al.*, 2002).

2.3.8.- Efectos Adversos

El cloranfenicol contiene el grupo nitrobenzeno. Los medicamentos que contienen un anillo bencénico con un grupo nitro o amino deprimen la función

hematopoyética de la médula ósea (Meyer, 1975). En humanos, el efecto adverso más importante son las discrasias sanguíneas, una reacción adversa fatal, aún en concentraciones subterapéuticas (Kunesh, 1986), que provoca una forma rara, pero a menudo letal, de aplasia de la médula ósea que lleva a la pancitopenia. En los pacientes que sobreviven hay una incidencia anormalmente elevada de leucemia (Goodman et al., 1990; Smith y Reynard, 1993). La frecuencia no tiene relación con la dosis, pero parece producirse más comúnmente en los individuos que se someten a tratamiento prolongado y especialmente en los que se exponen a la droga en más de una ocasión (Goodman et al., 1990). En los animales domésticos no parece existir esta toxicidad de manera tan manifiesta (Sumano y Ocampo, 1997).

En medicina veterinaria se han observado pocos problemas de toxicidad debido a que el tiempo de contacto del antimicrobiano con los animales domésticos es tan corto que no permite el desarrollo de discrasias sanguíneas como las que se presentan en el hombre (Fuentes, 1985).

El cloranfenicol entre otros trastornos puede producir efectos indeseables importantes que incluyen: el síndrome del niño gris en prematuros y recién nacidos caracterizado por vómitos, letargia, trastornos respiratorios, cianosis, distensión abdominal, hipotensión e hipotermia, síndrome que se puede presentar en otras edades pediátricas y en adultos (Goodman et al., 1990).

2.3.9.- Residuos

El cloranfenicol se prohibió en 1990 para su uso en medicina veterinaria. Se le considera al cloranfenicol como la sustancia más importante ubicada dentro del Anexo IV del Consejo de Regulación de drogas de uso veterinario de la Comunidad Europea. El tianfenicol y el florfenicol, los cuales tienen

estructuras similares al cloranfenicol han sido permitidos como sustitutos (Di Corcia y Nazzari, 2002; Stolker y Brinkman, 2005; De Brabander et al., 2009). La principal razón es que cantidades tan pequeñas como 1 ppm de este fármaco son capaces de producir anemia aplásica en el ser humano, lo que es virtualmente mortal. Es importante señalar que el cloranfenicol causa dos tipos de anemia en el ser humano (y no en los animales domésticos); la anemia dependiente de la dosis, que es reversible, y la independiente de la dosis, o reactiva, irreversible y mortal. Es obligación de todo veterinario cuidar que se cumpla esta disposición y que no se tolere el uso del cloranfenicol para animales destinados al consumo humano (Sumano y Ocampo, 1997). Debido a la prohibición del uso del cloranfenicol, se han desarrollado métodos muy sensitivos para la detección de residuos en carne, huevos, leche, orina, productos acuícolas y miel, capaces de detectar niveles de hasta $0,3 \mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$ (Stolker y Brinkman, 2005).

2.3.10.- Resistencia

La resistencia al cloranfenicol se debe al gen cat. Este gen codifica una enzima llamada "cloranfenicol acetiltransferasa" que desactiva el cloranfenicol enlazando uno o dos grupos acetilo derivados del acetyl-S-coenzima A, a los grupos hidroxilo del cloranfenicol. Esta acetilación impide la unión del cloranfenicol al ribosoma bacteriano (Cardona, 1966).

2.4.- Dimetridazol

2.4.1.- Fuente

El dimetridazol es un antimicrobiano derivado del imidazol perteneciente al grupo de los nitroimidazoles (Botana et al., 2002). Los nitroimidazoles son

antimicrobianos sintéticos con actividad inicialmente antiparasitaria (protozoarios) que se obtuvieron de la azomicina (2-nitro-imidazol), de la que luego de su uso clínico en 1959, se descubrieron propiedades bactericidas ligadas a microorganismos anaerobios (Di Corcia y Nazzari, 2002).

2.4.2.- Propiedades Químicas

Los nitroimidazoles se caracterizan por poseer una estructura heterocíclica con un anillo nitro de cinco (5) átomos similar al de los nitrofuranos (Botana et al., 2002). Su formula química es $C_5H_7N_3O_2$. (Figura 2).

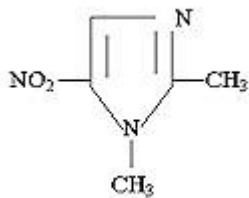


Figura 2. Fórmula Estructural del Dimetridazol.

2.4.3.- Espectro de Actividad

Los nitroimidazoles son bactericidas y actúan contra una gran variedad de bacterias anaerobias gram positivas y gram negativas, sin embargo, tienen una actividad limitada sobre bacterias aeróbicas (Kennedy et al., 1998; Botana et al., 2002), sobre éstas pueden ser activos en condiciones de anaerobiosis (Botana et al., 2002).

El dimetridazol posee buena acción terapéutica contra *Histomona meleagridis* en pavos y aves, así como contra *Brachyspira hyodysenteriae* en cerdos para el tratamiento de la disentería, una enfermedad

mucohemorrágica que afecta el intestino grueso de los lechones en crecimiento y engorde (Stolker y Brinkman, 2005). Es utilizado como preventivo en el alimento, agua de bebida y por vía intramuscular (Fuentes, 1985).

2.4.4.- Mecanismo de Acción

El mecanismo de acción de los nitroimidazoles, como el dimetridazol, metronidazol, ronidazol y tinidazol está basado en la disrupción o ruptura de las cadenas de ADN, impidiendo su reparación. (Fuentes, 1985), e inhibiendo las enzimas encargadas de la reparación del mismo (ADNasa) (Botana et al., 2002).

Todos los nitroimidazoles actúan por medio de la reducción del grupo nitro para formar compuestos intermedios inestables y tóxicos. Son rápidamente metabolizados, siendo producido el principal metabolito derivado del dimetridazol por hidroxilación del grupo 2-metil, dando lugar al hidroxidimetridazol. (Stolker y Brinkman, 2005).

El proceso de reducción requiere seis electrones y ocurre con potenciales rédox muy bajos, que solo lo tienen las bacterias anaerobias. Ésto produce metabolitos (radical nitro) que dañan el ADN bacteriano provocando su ruptura mediante oxidación, causando muerte celular. Este fenómeno se produce independientemente de la fase de crecimiento bacteriano, lo que explica la actividad de los nitroimidazólicos en contra de microorganismos sin división celular (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, 2007).

2.4.5.- Farmacocinética

Los nitroimidazoles son moléculas altamente liposolubles, por lo que se absorben muy bien en el tracto gastrointestinal. Se distribuyen ampliamente en el organismo, alcanzando altas concentraciones en los tejidos y fluidos, tanto intracelulares como transcelulares. Atraviesan fácilmente la barrera hematoencefálica. Se metabolizan principalmente en el hígado y sus metabolitos se excretan en la orina (Botana et al., 2002).

2.4.6.- Efectos Adversos

La Comisión Europea adoptó un Reglamento por el que se prohíbe el uso del dimetridazol en los medicamentos destinados a animales para la producción de alimentos, debido a sus potenciales efectos carcinogénicos, mutagénicos y tóxicos sobre los humanos, incluyéndolo, conjuntamente con el ronidazol y el metronidazol, en el Anexo IV del Consejo de Regulación de la Unión Europea, lo que significa que cualquier residuo de estos compuestos que se encuentre en animales productores de alimento para el consumo humano será considerado como una violación de la regulación (Stolker y Brinkman, 2005).

Re et al. (1997), evaluando la actividad genotóxica del metronidazol y el dimetridazol, reportaron hallazgos que sugieren que el dimetridazol induce daños en el ADN de los linfocitos humanos.

2.4.7.- Residuos

Al grupo de los nitroimidazoles no se les ha sido posible fijar un límite máximo de residualidad (Kennedy et al., 1998). Los nitroimidazoles como el

dimetridazol, tienen su prohibición basada en que los residuos de este ingrediente activo, en productos de origen animal, tienen propiedades tóxicas, mutagénicas y son potencialmente cancerígenos en humanos (Di Corcia y Nazzari, 2002).

En 1988, los Estados Unidos anunciaron la retirada del dimetridazol. Los reguladores consideraron que el dimetridazol demostró tener efectos mutagénicos en varias cepas bacterianas y en la *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta), causando además un aumento significativo en la aparición de tumores mamarios en ratas, pudiendo constituir sus residuos un potencial riesgo carcinógeno para la salud humana. Además, los métodos analíticos desarrollados para detectar los residuos de nitrofurazona, furazolidona y dimetridazol, no son confiables, ya que detectan solamente los residuos de los compuestos originales y no de sus metabolitos, por lo cual no es posible establecer el período de retiro de estas drogas desde el último tratamiento hasta el sacrificio del animal (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, 2007).

La Unión Europea (UE) en 2001, también retiró la autorización para el uso de dimetridazol como una medicina veterinaria basado en las preocupaciones acerca de su posible carcinogenicidad, mientras que en Canadá en 2002, se prohibió el uso de todas las sustancias químicas 5-nitroimidazol en animales que producen alimentos para el consumo humano debido a la falta de información toxicológica sobre residuos fijos de metabolitos (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, 2007).

2.5.- Metodologías para determinar residuos de fármacos

Al igual que las metodologías de detección para cualquier tipo de sustancia, el análisis de fármacos en alimentos de origen animal demanda costos, tiempo, equipos, reactivos y personal entrenado. Las técnicas destinadas a tal fin deben ser de fácil manipulación, económicas y con las cuales se obtengan resultados en poco tiempo; además deben ser reproducibles, sensibles y específicas (Lozano y Arias, 2008).

Los métodos para el monitoreo de productos utilizados en medicina veterinaria (de práctica legal o no), pueden dividirse en métodos de “screening” y métodos confirmatorios. Los métodos de “screening” son herramientas que son usadas para detectar la presunta presencia de un determinado producto o clase de producto a un nivel de interés, teniendo la desventaja que estos métodos generalmente no distinguen entre miembros de una clase de antimicrobianos, pero proveen un estimado del total de residuos detectado, sin embargo, en oportunidades el número de falsos positivos es elevado (Di Corsia y Nazzari, 2002). Entre éstos se tiene a la técnica de inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) que es la más comúnmente usada; la técnica de radioinmunoensayo (RIA); la técnica de Charm II; la técnica de SNAP y el Inmunoensayo de Flujo Citométrico, entre otros. Los métodos confirmatorios son métodos que proveen información completa, segura y de alta precisión (alta sensibilidad y especificidad), permitiendo la identificación del producto en forma exacta y la cantidad del antimicrobiano presente (Blasco et al., 2007). Entre estos métodos se tiene la cromatografía líquida - espectrometría en masa/espectrometría en masa (LC-MS/MS), cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC) y la cromatografía líquida de alto rendimiento o alta resolución (HPLC) (De Brabander et al., 2009).

2.5.1.- Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento

La cromatografía líquida de alto rendimiento o alta resolución (HPLC, del inglés High Performance Liquid Chromatography), es una técnica esencial en el análisis farmacéutico moderno por su versatilidad y amplio campo de aplicación, la misma permite separar físicamente y cuantificar los distintos componentes de una solución. Las técnicas cromatográficas permiten separar mezclas de compuestos en función de su diferente distribución entre dos fases, una estacionaria y otra móvil que fluye de manera permanente durante el análisis, en el caso de la HPLC la fase móvil es un líquido. Las sustancias que permanecen más tiempo libres en la fase móvil avanzan de forma más rápida con el flujo de la misma, mientras que las que quedan más unidas o retenidas a la fase estacionaria avanzan menos y por tanto demorarán más en salir o eluir (Avendaño, 1993).

El método de HPLC, por su alta especificidad, sensibilidad y rango cuantitativo, permite una alta confiabilidad y disminución de resultados falsos positivos, pudiéndose obtener límites de detección cercanos a 1 ppb (Montoya, 2002).

La técnica se fundamenta en que los componentes de la muestra, previamente disueltos en un disolvente adecuado (fase móvil), son forzados a atravesar la columna cromatográfica gracias a la aplicación de altas presiones (1500 – 2200 psi). El material interno de la columna, fase estacionaria, está constituido por un relleno capaz de retener de forma selectiva los componentes de la mezcla. La resolución de esta separación depende de la interacción entre la fase estacionaria y la fase móvil, pudiendo ser manipulada a través de la elección de diferentes mezclas disolventes y distintos tipo de relleno. Como resultado final los componentes de la mezcla

salen de la columna separados en función de sus tiempos de retención en lo que constituye el cromatograma. A través del cromatograma, que es el resultado gráfico de la cromatografía (Figura 3), se puede realizar la identificación cualitativa y cuantitativa de las especies, donde los diferentes picos o manchas del cromatograma se corresponden a los componentes de la mezcla separada (Skoog y Leary, 1999).

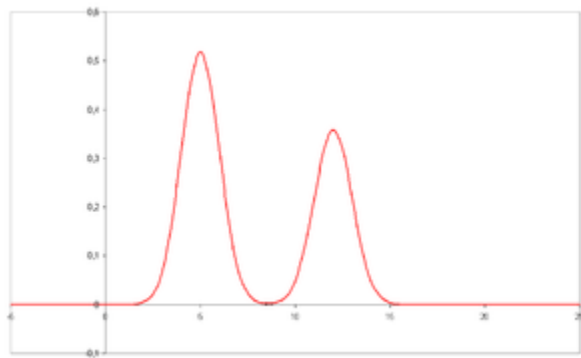


Figura 3. Ejemplo de cromatograma con dos picos “resueltos”.

En el eje X se representa el tiempo de retención, y en el eje Y una señal (obtenida, por ejemplo, a partir de un [espectrofotómetro](#), un [espectrómetro de masas](#) o cualquier otro de los diversos detectores) correspondiente a la respuesta creada por los diferentes analitos o compuestos existentes en la muestra. En el caso de un sistema óptimo, la señal es proporcional a la concentración del analito específico separado (Skoog y Leary, 1999).

Las razones de la popularidad de esta técnica son su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación de especies no volátiles o termolábiles y, sobre todo, su gran aplicabilidad a sustancias que son de gran interés en la industria, en muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general. Algunas de las aplicaciones se enumeran a continuación:

- Productos farmacéuticos: antibióticos, sedantes, esteroides, analgésicos
- Bioquímica: aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos
- Alimentación: edulcorantes artificiales, antioxidantes, aditivos
- Contaminantes: plaguicidas, herbicidas, fenoles
- Química forense: drogas, venenos, alcohol en sangre, narcóticos
- Medicina clínica: ácidos biliares, metabolitos de drogas, extractos de orina, estrógenos (Skoog y Leary, 1999).

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- Tipo de Investigación

El estudio propuesto es una Investigación No Experimental de Tipo Descriptivo (Exploratorio) Transeccional; debido a que la unidad de análisis es observada en un solo punto en el tiempo, no manipulándose deliberadamente las variables, ni construyendo alguna situación, sino observando situaciones ya existentes (Hernández et al., 1997; Ávila, 2010).

3.2.- Población

La población objeto de este estudio estuvo constituida por cerdos provenientes de granjas intensivas ubicadas en los Estados Aragua y Carabobo, los cuales fueron beneficiados en un matadero industrial ubicado en el Estado Aragua, durante el período Octubre 2010 – Marzo 2011.

3.3.- Muestras

El riñón fue seleccionado como tipo de muestra debido a que la excreción de los antimicrobianos en estudio, cloranfenicol y dimetridazol, después de ser metabolizados son eliminados por la orina mediante filtración y secreción (Goodman et al., 1990; Botana et al., 2002). Por otra parte, en un estudio previo (Briceño et al., 2010), se demostró la presencia de residuos de cloranfenicol en muestras de riñón porcino en 17% del total de las granjas evaluadas.

El tamaño de la muestra (número de granjas a evaluar) se realizó en función al número aproximado de granjas intensivas ubicadas en los estados Aragua y Carabobo, y fue basado en una existencia de aproximadamente 51 granjas intensivas localizadas en el Estado Aragua y 39 ubicadas en el Estado Carabobo (se consideró de esta manera debido a la inexistencia de un censo nacional porcino actualizado), muestreándose un total de 20 granjas porcinas, 11 provenientes del Estado Aragua y 09 del Estado Carabobo.

Tomando en consideración lo que señalan Pointon *et al.* (1999), de que el tamaño de la muestra debe ser el adecuado para poder detectar al menos un (1) cerdo positivo dentro del rebaño, lo que en la práctica es determinado por la menor expectativa de prevalencia posible, y que las granjas a evaluar tenían un inventario mayor a 500 madres, o sea cerca de 5000 lechones en crianza; de cada granja para trabajar con un 95% de confianza y un 5% de error máximo, se seleccionaron al azar en la planta beneficiadora 30 canales porcinas. De cada una de estas canales seleccionadas, se tomó una muestra de riñón de aproximadamente 50 gramos. Las muestras fueron almacenadas en bolsas plásticas con cierre hermético, identificadas y conservadas a – 20 °C, hasta su posterior análisis.

El muestreo se efectuó entre los meses de octubre de 2010 y Marzo de 2011.

3.4.- Procesamiento de las Muestras

Del total de 30 muestras de riñón recolectadas por granja, se realizó un (1) pool, efectuándose un homogeneizado de las mismas, para posterior detección de residuos de los antimicrobianos clorafenicol y dimetridazol mediante la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC),

por el método sugerido por Bele et al. (2007). La extracción de los antimicrobianos se efectuó mediante el principio de la dispersión de matriz en fase sólida, que consiste en romper las membranas celulares por medio de fuerzas hidrofóbicas y mecánicas para dejar al descubierto los componentes hidrofílicos.

3.4.1.- Equipos y Materiales

Cromatógrafo líquido Hewlett Packard 1100 HPLC con detector UV visible, polaridad positiva, con longitud de onda 272 nm; todo conectado a computadora Compaq Pentium V con una impresora HP Laserjet 18 y un paquete computacional Chemstation Version A 0.09B.

Columna No. 7, lichrososr RP 8, dimensiones 200x 4.6 mm, tamaño de la partícula 10 μ m. Volumen de inyección 20 μ l, modo de inyección automática, flujo de 1,0 ml/min.

Ultrasonido D-78224 Sigen/Htw.

Balanza analítica OHAUS con apreciación 0,0001 g.

Micropipetas de 100-1000 μ l.

Puntillas de 100-1000 μ l de capacidad.

Filtros de 0,450 μ m nylon para solventes.

Jeringas de 5 ml.

Balones aforados con tapa de teflón de 10 ml.

Viales de 1,5 ml.

3.4.2.- Reactivos y Standars

Agua.

Acetonitrilo.

Buffer fosfato pH 2,3 (4,8 g de ácido fosfórico, 6,66 g de fosfato dihidrógeno de potasio).

Estándar de Cloranfenicol y Dimetridazol.

3.4.3.- Procedimiento.

Se pesa la muestra dentro de un balón de 50 ml.

Se diluye con 25 ml Buffer fosfato pH 2,3 y 10 ml de acetonitrilo y se coloca en ultrasonido por 10 min. sin calentamiento.

Se deja enfriar. Se afora con acetonitrilo y se filtra.

El filtrado se coloca en un vial para su lectura correspondiente en el cromatógrafo de HPLC.

Se pesan aproximadamente 20 mg del estándar en un balón de 50 ml y se trata igual que la muestra. Luego se realizan patrones de 100 ppm, 50 ppm, 15 ppm y 5 ppm.

Se elaboran curvas de calibración, a partir de soluciones patrón de cada uno de los antimicrobianos en estudio (estándars puros de cloranfenicol y dimetridazol). Cada muestra se trabaja junto con tejidos libres de los antimicrobianos (controles negativos) y otro adicionado con los antimicrobianos de interés (controles positivos), a fin de calcular el porcentaje de recuperación de la técnica.

Los niveles detectados de los antimicrobianos en estudio se expresaron en mg/Kg.

3.4.4.- Cálculos

Cloranfenicol o Dimetridazol g/100g = (área muestra x concentración estándar)/(Fr x peso muestra) x densidad.

Fr = área estándar/peso estándar

3.4.5.- Sensibilidad del Método

Límite de detección: Cloranfenicol 0,37 mg/Kg
 Dimetridazol: 1,30 mg/Kg

3.5.- Técnicas de Presentación de los Datos y Análisis Estadístico de los Resultados

Los datos obtenidos se presentan a través de cuadros y utilizando la estadística descriptiva, caracterizando las variables como proporciones o porcentajes, mostrándose a los mismos en gráficos circulares (tortas), así como en histogramas; para el objetivo específico 3, se aplicó estadística inferencial, utilizando prueba de hipótesis y la prueba de Chi Cuadrado para asociación de variables, utilizando el paquete estadístico Statistix 8.0. También se utilizó la prueba de t de student para datos no pareados utilizando el paquete estadístico Graphpad software, para comparar las medias de los niveles de cloranfenicol y dimetridazol detectados. El nivel de significancia utilizado en ambas pruebas fue del 5%.

4.- RESULTADOS.

En el Cuadro 1, se observan los niveles de residuos detectados de cloranfenicol y dimetridazol en muestras de riñón de cerdos provenientes de granjas porcinas del Estado Aragua y su resultado de acuerdo al LMR establecido por los diferentes entes reguladores.

Cuadro 1.- Niveles de Cloranfenicol y Dimetridazol detectados en muestras de riñón de cerdos procedentes de granjas porcinas del Estado Aragua, período Octubre 2010 – Marzo 2011

Granja	Cloranfenicol mg/Kg	Resultado	Dimetridazol mg/Kg	Resultado
1	0,0002	Positivo	ND	Negativo
2	0,0014	Positivo	ND	Negativo
3	0,0007	Positivo	ND	Negativo
4	ND	Negativo	ND	Negativo
5	ND	Negativo	ND	Negativo
6	ND	Negativo	ND	Negativo
7	ND	Negativo	ND	Negativo
8	ND	Negativo	ND	Negativo
9	ND	Negativo	ND	Negativo
10	ND	Negativo	ND	Negativo
11	ND	Negativo	ND	Negativo

ND = No Detectable

En la Figura 4, se presenta la proporción de granjas porcinas procedentes del Estado Aragua que fueron detectadas con residuos de cloranfenicol y dimetridazol.

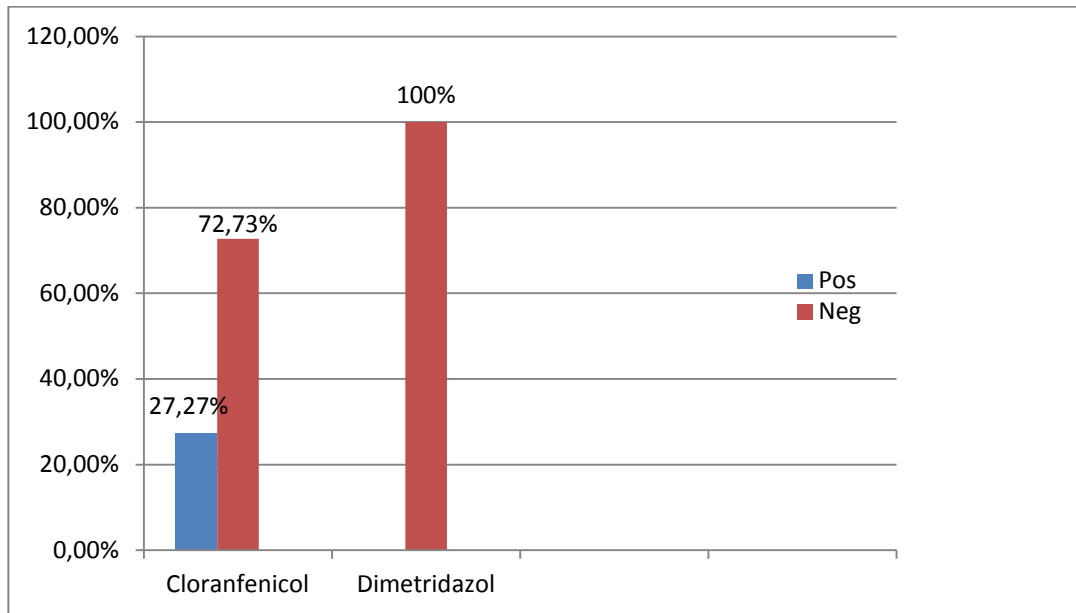


Figura 4.- Proporción de Granjas detectadas con residuos de Cloranfenicol y Dimetridazol en muestras de riñón de cerdos procedentes del Estado Aragua.

El Cuadro 2, presenta los niveles de residuos detectados de cloranfenicol y dimetridazol en muestras de riñón de cerdos provenientes de granjas porcinas del Estado Carabobo y su resultado de acuerdo al LMR establecido por los diferentes entes reguladores.

Cuadro 2.- Niveles de Cloranfenicol y Dimetridazol detectados en muestras de riñón de cerdos procedentes de granjas porcinas del Estado Carabobo, período Octubre 2010 – Marzo 2011.

Granja	Cloranfenicol mg/Kg	Resultado	Dimetridazol mg/Kg	Resultado
1	4,13	Positivo	3,47	Positivo
2	13,2	Positivo	4,87	Positivo
3	5,87	Positivo	11,57	Positivo
4	22,23	Positivo	14,43	Positivo
5	28,3	Positivo	8,1	Positivo
6	13,8	Positivo	3,53	Positivo
7	ND	Negativo	ND	Negativo
8	ND	Negativo	ND	Negativo
9	ND	Negativo	ND	Negativo

ND = No Detectable

El porcentaje de granjas porcinas procedentes del Estado Carabobo que fueron detectadas con residuos de cloranfenicol y dimetridazol, puede observarse en la Figura 5.

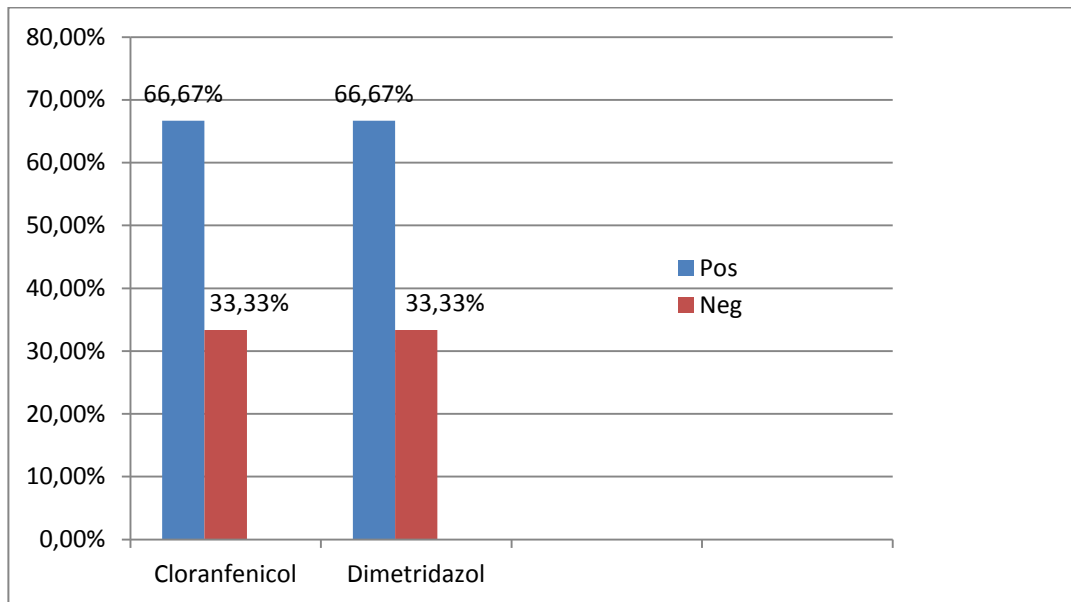


Figura 5.- Proporción de Granjas detectadas con Cloranfenicol y Dimetridazol en muestras de riñón de cerdos procedentes del Estado Carabobo.

Las Figuras 6 y 7, muestran la proporción total de granjas detectadas con residuos de cloranfenicol y dimetridazol, respectivamente.

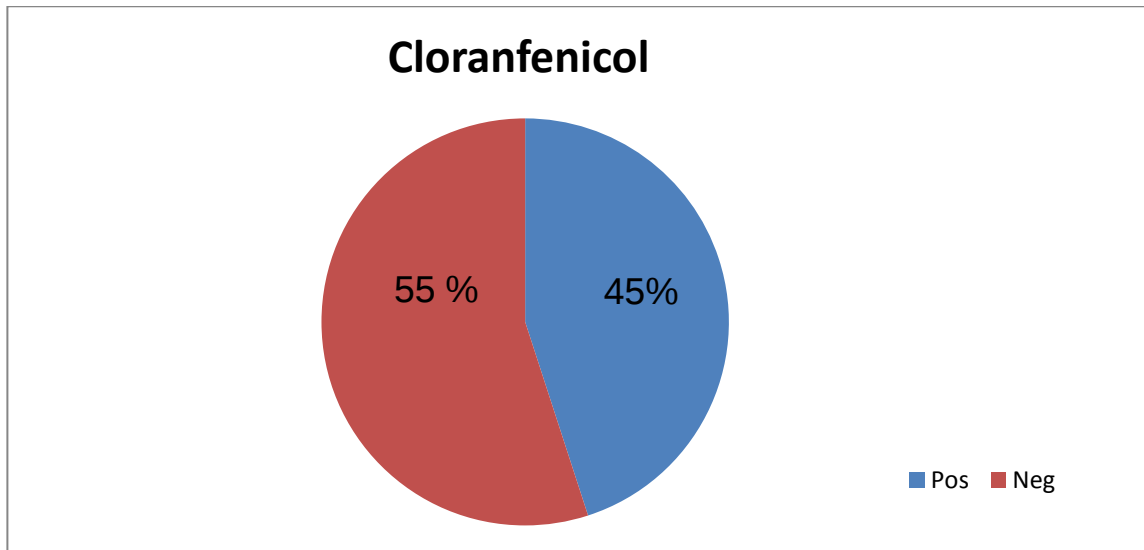


Figura 6.- Proporción total de granjas porcinas detectadas con residuos de Cloranfenicol.

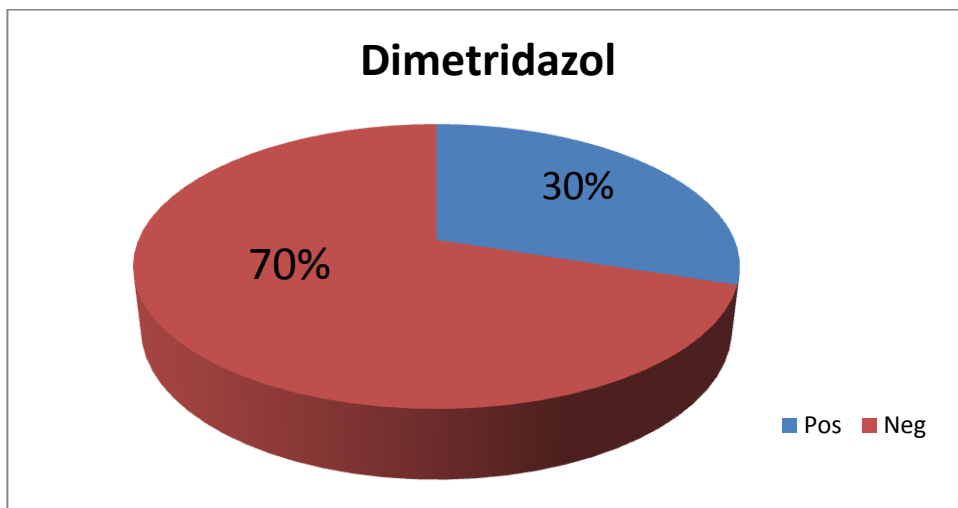


Figura 7.- Proporción total de granjas porcinas detectadas con residuos de Dimetridazol.

En los Cuadros 3 y 4, se presentan el total de granjas porcinas detectadas con residuos de cloranfenicol y dimetridazol en relación a la región de donde proceden.

Cuadro 3.- Total de granjas porcinas detectadas con residuos de cloranfenicol de acuerdo a la región de procedencia.

	POSITIVAS	NEGATIVAS
ARAGUA	3	8
CARABOBO	6	3
TOTAL	9	11

$P > 0,05$

Cuadro 4.- Total de granjas porcinas detectadas con residuos de dimetridazol de acuerdo a la región de procedencia.

	POSITIVAS	NEGATIVAS
ARAGUA	0	11
CARABOBO *	6	3
TOTAL	6	14

* $P < 0,05$

El promedio de los niveles de residuos detectados de cloranfenicol y dimetridazol en muestras de riñón de cerdos, de acuerdo a la región de donde proceden, es presentado en los Cuadros 5 y 6.

Cuadro 5.- Promedio de los niveles de residuos detectados de cloranfenicol en muestras de riñón de cerdos de acuerdo a la región de procedencia (Casos Positivos).

Promedio (mg/Kg)	
ARAGUA	0,000767 ± 0,000603
CARABOBO *	14,588 ± 9,3202

* P<0,05

Cuadro 6.- Promedio de los niveles de residuos detectados de dimetridazol en muestras de riñón de cerdos de acuerdo a la región de procedencia (Casos Positivos).

Promedio (mg/Kg)	
ARAGUA	ND
CARABOBO *	7,6617 ± 4,5544

ND: No Detectable

* P<0,05

5.- DISCUSIÓN.

Los resultados de la presente investigación evidencian la presencia de residuos de cloranfenicol y dimetridazol en las muestras procesadas de riñón de cerdos beneficiados en un matadero industrial del estado Aragua, y por tanto, el uso ilegal de estos antimicrobianos, fármacos a los cuales no se les ha podido fijar un LMR (Stolker y Brinkman, 2005), poniendo de manifiesto, que se están comercializando en nuestro país productos comestibles de origen animal con presencia de estos antimicrobianos de uso prohibido, debido a sus severos efectos adversos que sobre la salud pública pueden acarrear, como las discrasias sanguíneas en el caso del cloranfenicol, una reacción adversa fatal, aún en concentraciones subterapéuticas (Kunesh, 1986), que provoca una forma rara, pero a menudo letal, de aplasia de la médula ósea que lleva a la pancitopenia (Goodman *et al.*, 1990; Smith y Reynard, 1993) y los efectos carcinogénicos, mutagénicos y tóxicos que induce el dimetridazol (Stolker y Brinkman, 2005).

El resultado de los niveles de residuos de cloranfenicol y dimetridazol detectados en muestras de riñón porcino procedentes de cerdos criados en granjas intensivas localizadas en los estados Aragua y Carabobo, que se muestran en los Cuadros 1 y 2, indican, en relación a las muestras procesadas provenientes del estado Aragua, que en tres (3) de las once (11) granjas evaluadas se detectaron residuos de cloranfenicol, con valores que van de un mínimo de 0,0002 mg/Kg a un máximo de 0,0014 mg/Kg, sin embargo, considerando que el límite de sensibilidad del método utilizado en este estudio para la detección del cloranfenicol se ubica en un nivel de 0,37 mg/Kg, estos resultados podrían catalogarse como falsos positivos; para el

resto de las muestras de este estado (8/11) no se detectó nivel alguno de residuo de cloranfenicol. En cuanto al dimetridazol, los resultados obtenidos no evidencian niveles detectables de este antimicrobiano en las muestras evaluadas oriundas de este estado.

Al efectuar el análisis de las muestras de riñón procesadas, a fin de la detectar residuos de cloranfenicol y dimetridazol de los cerdos producidos en granjas del estado Carabobo, se determinó que seis (6) de las nueve (9) granjas evaluadas resultaron positivas a presencia de residuos de cloranfenicol, con niveles que van desde 4,13 mg/Kg hasta 22,23 mg/Kg. Estos valores son muy superiores a los reportados por Vásquez-Moreno et al. (2002) y Briceño et al. (2010), quienes reportaron valores de 0,018 µg/g y entre 13,6 a 42,9 ng/Kg, respectivamente; sin embargo, las técnicas de laboratorio utilizadas en cada uno de estos estudios difieren.

Para el caso del dimetridazol, cuyo límite de sensibilidad de la técnica de HPLC usada en esta investigación fue de 1,30 mg/Kg, se apreciaron niveles detectables de este antimicrobiano en rangos que van desde un mínimo de 3,47 mg/Kg hasta un máximo de 14,43 mg/Kg, en 6 de las 9 granjas evaluadas, con la particularidad de que las granjas que resultaron positivas para dimetridazol fueron las mismas 6 granjas que resultaron positivas a cloranfenicol.

Con estos resultados se ratifica el uso ilegal del cloranfenicol en las granjas porcinas venezolanas, evindenciado en primera instancia por Briceño et al. (2010), y se refleja por primera vez la utilización irregular del dimetridazol en nuestro país.

La proporción de granjas que resultaron positivas a la presencia de residuos de cloranfenicol por estado (Figuras 4 y 5), refleja un 27,27 % (3/11) y un 66,67% (6/9) de positividad para las granjas procedentes de los estados Aragua y Carabobo, respectivamente. Esta proporción, con respecto a las granjas ubicadas en el estado Aragua, es muy similar a los resultados obtenidos por Briceño *et al.* (2010), quienes detectaron mediante la técnica de inmunoensayo ligado a enzimas, ELISA, (RIDASCREEN®), residuos de cloranfenicol en el estado Aragua, en 5 de 20 granjas analizadas, lo que representó un 25% de las mismas; sin embargo, los mismos no coinciden al contrastarse con el porcentaje de granjas detectadas positivas para el estado Carabobo en la citada investigación, ya que de las 10 granjas evaluadas en el mismo, no se determinaron residuos de cloranfenicol en ninguna de ellas. Esto pudo haberse debido, entre otras cosas, a que la prueba de ELISA (RIDASCREEN®), utilizada por los citados autores es una técnica que está clasificada como de “screening”, siendo la misma de menor sensibilidad y especificidad a la utilizada en este estudio (HPLC) (Blasco *et al.*, 2007). El inmunoensayo ligado a enzimas, es una herramienta usada para detectar la presunta presencia de un determinado producto o clase de producto a un nivel de interés, teniendo la desventaja de que este método generalmente no distingue entre miembros de una clase de antimicrobianos, proporcionando solo un estimado del total de residuos detectado (Di Corsia y Nazzari, 2002). Por otra parte, sólo analizaron 5 muestras por granja, lo que pudo haber afectado el nivel de confianza y aumentado el margen de error, según lo descrito por Pointon *et al.* (1999); o simplemente pudo verse afectado por el factor aleatorio en la selección de granjas y animales a muestrear, la poca o ninguna utilización del fármaco para ese momento, o por el factor tiempo y espacio en el cual se realizó la investigación que es único para cada estudio.

Al analizar este mismo aspecto pero con relación al antimicrobiano dimetridazol (Figuras 4 y 5), se observa que no se pudo detectar residuo alguno de éste en los riñones de cerdos muestreados provenientes de las 11 granjas del estado Aragua, mientras que para las granjas porcinas evaluadas localizadas en el estado Carabobo, se evidenciaron en 66,67% de las mismas (6/9), residuos de dimetridazol.

Los resultados muestran (Figura 6), que del total de granjas evaluadas, 45 % de las mismas fueron positivas a residuos detectables del antimicrobiano cloranfenicol (9/20), resultado que casi triplica a los resultados obtenidos por Briceño et al. (2010), quienes reportaron solo un 17% (5/30) de granjas positivas para los mismos estados (Aragua y Carabobo). Esto confirma el uso ilegal, rutinario y creciente de este antimicrobiano en la industria porcina venezolana, producto cuya utilización está prohibida en nuestro país, en animales destinados al consumo humano, según resolución No. 549 del Ministerio de Agricultura y Cría, actual Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (Gaceta Oficial de la República de Venezuela, 22-11-1988).

Del mismo modo, el dimetridazol fue detectado en 30% (6/20), del total de granjas evaluadas (Figura 7), resultados que no se ajustan a las normas establecidas por el *Codex Alimentarius*, considerando que Venezuela se rige por las pautas dictadas por este organismo creado por la FAO y la OMS para definir las normas internacionales que sirvan de orientación a la industria alimentaria y que a su vez protejan la salud de los consumidores (Portal Secamer), que prohíbe la utilización de este antimicrobiano.

Al comparar estadísticamente el número total de granjas positivas a cloranfenicol de acuerdo a la región de procedencia de las mismas (cuadro

3), se observa que no hubo diferencia significativa ($P>0,05$) entre el número de granjas detectadas con residuos del fármaco en el estado Aragua (3/11) al cotejarlas con las del estado Carabobo (6/9).

Al efectuar el mismo análisis en relación al dimetridazol (Cuadro 4), se evidencia una diferencia estadística significativa ($P<0,05$), ya que no se detectaron residuos de este antimicrobiano en ninguna de las granjas evaluadas procedentes del estado Aragua (0/11), mientras que en 6 de las 9 granjas en estudio oriundas del estado Carabobo si se detectaron residuos del fármaco.

En relación a los promedios de los niveles de residuos evidenciados para ambos antimicrobianos, de acuerdo a la región de origen de las respectivas muestras procesadas, se observa (Cuadro 5), que la media para los niveles de cloranfenicol detectados para las granjas procedentes del estado Carabobo ($14,588 \pm 9,3202$ mg/Kg), es estadísticamente superior ($P<0,05$), a las oriundas del estado Aragua ($0,000767 \pm 0,000603$ mg/Kg). De igual forma (cuadro 6), el promedio de los niveles de residuos encontrados de dimetridazol en las granjas localizadas en el estado Carabobo ($7,6617 \pm 4,5544$ mg/Kg) es significativamente mayor ($P<0,05$), a las analizadas del estado Aragua, donde no fueron detectables. Estos resultados indican la utilización de estos antimicrobianos de una forma más indiscriminada e irracional en las granjas evaluadas del estado Carabobo.

Finalmente, la detección de antimicrobianos de uso restringido como cloranfenicol y dimetridazol, confirma que no existe una adecuada vigilancia toxicológica en relación al manejo de los fármacos en las unidades de producción porcina y que los organismos reguladores oficiales en Venezuela no están llevando a cabo programas sistemáticos de detección de residuos

en los alimentos de origen animal destinados al consumo humano, lo que podría ocasionar, si es que ya no se están produciendo, efectos indeseables de alta repercusión en la salud pública.

6.- CONCLUSIONES.

De acuerdo a los objetivos planteados para el desarrollo del presente trabajo y basado en los resultados obtenidos en el mismo, se puede concluir que:

- 1.- Se evidenció la presencia en muestras de riñón de cerdos beneficiados en el estado Aragua, durante el período Octubre 2010 – Marzo 2011, de residuos de cloranfenicol y dimetridazol, en 45% y 30% del total de granjas evaluadas, respectivamente.
- 2.- El nivel de los residuos detectados de cloranfenicol y dimetridazol, superó los límites establecidos por las instituciones nacionales e internacionales (Codex Alimentarius, FAO/OMS, FDA, EMEA).
- 3.- El promedio de los niveles detectados de residuos de cloranfenicol y dimetridazol en las muestras de riñón de los cerdos provenientes de las granjas establecidas en el estado Carabobo fue superior ($P < 0,05$) a las procedentes del estado Aragua.

7.- RECOMENDACIONES.

Mantener y ampliar la investigación para éstos y otros antimicrobianos de uso prohibido.

Realizar estudios para determinar la vía de administración de los productos farmacéuticos de uso prohibido que están siendo utilizados.

Efectuar estudios en otras regiones de importancia en producción porcina como lo son los estados Yaracuy, Guárico, Lara, Zulia y los estados andinos.

Fortalecer una política de control y vigilancia sistemática por parte de las autoridades zoosanitarias nacionales, que abarque granjas, plantas productoras de alimentos balanceados, mataderos industriales, industria farmacéutica y demás miembros de la cadena agroindustrial que intervienen en el rubro porcino.

8.- BIBLIOGRAFIA.

Alvarado, S.; Ascanio, E. y Méndez, C. 2008. Determinación de residuos de oxitetraciclina en muestras de tejido bovino destinadas al consumo humano. Revista Facultad de Ciencias Veterinarias UCV. 49(2):73-79.

Anadón, A. y Martínez-Larrañaga, M. 1999. Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. [Livestock Production Science](#). [59\(2-3\)](#):183-198.

Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority. 2007. The reconsideration of registrations of products containing dimetridazole and their associated approved labels. [en línea] Dirección URL:<http://www.apvma.gov.au/products/review/docs/dimetridazole_final_report.pdf [Consulta: 05 de Julio de 2010].

Avendaño, M. 1993. Introducción a la Química Farmacéutica. Interamericana McGraw-Hill. Madrid, España. 1019 p.

Ávila, H. 2010. “Introducción a la Metodología de la Investigación” [en línea]. Dirección URL:<<http://www.eumed.net/libros/2006c/203/2a.htm> [Consulta: 05 de Julio de 2010].

Bele, C.; Matea, C.; Dulf, F. y Miclean, M. 2007. Determination of six sulfonamides in pork and beef meat by a new solid phase extraction and HPLC – UV for detection. Bulletin USAMV-CN. 64(1-2): 57-61.

Bermudez-Almada, M.; Miranda-Vasquez, L.; Espinosa-Plascencia, A.; Valenzuela-Quintanar, A. y Vasquez-Moreno, L. 2001. Residuos de sulfonamidas en músculo de porcinos sacrificados en la región noroeste de México. Revista Científica FCV-LUZ/Vol. XI(2):127-132.

Blasco, C; Picó, Y. y Torres, C. 2007. Progress in analysis of residual antibacterials in food. TrAC Trends in Analytical Chemistry 26(9): 895-913.

Booth, N. y McDonald, L. 1987. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Vol II. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza, España. 528 p.

Botana, L.; Landoni, F. y Martín-Jimenez, T. 2002. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. McGraw-Hill-Interamericana de España. 734 p.

Briceño, E.; Ascanio, E.; Riera, J.; Arrieta, D.; Flores, S. y Maniglia, G. 2010. Evidencia de residuos de cloranfenicol en muestras de riñón de cerdos de la región central de Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ. 20(3):254-258.

Bush, E. y Biehl, L. 2002. Use of antibiotics and feed additives in weanedmarket pigs by U.S. Pork Producers. Proceedings American Association of Swine Veterinarians. 33rd Annual Meeting. Kansas City, Missouri. pp. 329-331.

Cardona, V. 1966. Efectos tóxicos del cloranfenicol en médula ósea. [en línea] Dirección URL:< <http://www.bvs.hn/RMH/pdf/1966/pdf/Vol34-4-1966-2.pdf> [Consulta: 05 de Julio de 2010].

De Brabander, H.; Noppe, H.; Verheyden, K.; Vanden Bussche, J.; Wille, K.; Okerman, L.; Vanhaecke, L.; Reybroeck, W.; Ooghe, S. y Croubels, S. 2009. Hormones and veterinary drugs - state-of-the-art and emerging technologies. Residue analysis: Future trends from a historical perspective. [Journal of Chromatography A](#). [1216\(46\)](#):7964-7976.

Di Corcia, A. y Nazzari, M. 2002. Liquid chromatographic–mass spectrometric methods for analyzing antibiotic and antibacterial agents in animal food products. [Journal of Chromatography A](#) [974\(1-2\)](#):53-89.

Fuentes, V. 1985. Farmacología y terapéutica veterinaria. Nueva Editorial Panamericana. 574p.

Gaceta Oficial de la República de Venezuela. 24-11-1988. Ministerio de Agricultura y Cria. Dirección General Sectorial de Desarrollo Ganadero. Dirección de Sanidad Animal.

González, A.; Mendoza, M. y Hernández, N. 2004. Informe final de Pasantías académicas en Medicina y Producción de Cerdos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. 51p.

Goodman, A.; Goodman, L.; Rall, T. y Murad, F. 1990. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Editorial Médica Panamericana. Séptima Edición. 1725 p.

Gracey, J.F.1989. Higiene de la Carne. McGraw-Hill-Interamericana de España. 522 p.

Hernández, R.; Fernández, C. y Baptista, P. 1997. Metodología de la Investigación. McGraw-Hill, México. 445 p.

Kennedy, D.; McCracken, R.; Cannavan, A. y Hewitt, S. 1998. Use of liquid chromatography–mass spectrometry in the analysis of residues of antibiotics in meat and milk. [Journal of Chromatography A](#). [812\(1-2\)](#):77-98.

Kunesh, J. 1986. Therapeutics. En Diseases of Swine. 6th Edition. Iowa State University Press. Ames, Iowa, U.S.A. pp. 803 - 812.

Larrañaga, I.; Carballo, J.; Rodríguez, M. y Fernández, J. 1999. Control e Higiene de los Alimentos. McGraw-Hill/Interamericana de España,S.A.U. 544 p.

Lozano, M. y Arias, D. 2008. Residuos de fármacos en alimentos de origen animal. Panorama actual en Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. versión impresa ISSN 0120-0690. [en línea] Dirección URL:< http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902008000100012&lng=es&nrm=iso [Consulta: 05 de Julio de 2010].

Medina, M.; González, D. y Ramírez, A. 2008. Detección de residuos antimicrobianos en tejidos comestibles y tetraciclinas en huesos de cerdos. Rev. Salud Animal. 30(2):110-115.

Meyer, J. 1975. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Editorial Hispano Americana. México. 929 p.

Montoya, N. 2002. CENAIM Informa. "Boletín Informativo 15 de diciembre. Análisis de residuos de cloranfenicol y nitrofuranos". [en línea]. Dirección URL:< <http://www.cenaim.espol.edu.ec/publicaciones/quincenal/bquinc70.pdf> [Consulta: 25 de Agosto de 2011].

Mota, A. 1994. "Detección de residuos de antibióticos en carne fresca de cerdo." [en línea]. Dirección URL:<<http://www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/resunfagro/cerdos/albelin.htm> [Consulta: 05 de Julio de 2010].

Pointon, A.; Davies, P. y Bahnson, P. 1999. Disease surveillance at slaughter. Diseases of Swine. Iowa State University Press. 8th Edition. pp. 1111-1132.

Portal Secamer. [en línea]. Dirección URL:<<http://www.sencamer.gob.ve/Sencamer/documents/codex.htm> [Consulta: 05 de Diciembre de 2011].

Ré, J.L.; De Méo, M.P.; Laget, M.; Guiraud, H.; Castegnaro, M.; Vanelle, P. y Duménil, G. 1997. Evaluation of the genotoxic activity of metronidazole and dimetridazole in human lymphocytes by the comet assay. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 375(2):147-155.

Reig, M. y Toldrá, F. 2008. Symposium on meat safety: from abattoir to consumer. Veterinary drug residues in meat: Concerns and rapid methods for detection. [Meat Science](#). [78\(1-2\)](#):60-67.

Repetto, M. 1995. Toxicología Avanzada. Ediciones Dáz de Santos, S.A. Madrid, España. 621 p.

Rueff, L. 2005. Practical Considerations in antibiotic usage. Proceedings American Association of Swine Veterinarians. 36th Annual Meeting. Toronto, Canada. pp. 461-463.

Salisbury, C.; Patterson, J.; MacNeil, J.; Feltmate, T.; Tittiger, F.; Asselin, J. y Black, W. 1988. Survey of chloramphenicol residues in diseased swine. Can J Vet Res. 52:15-17.

Skoog, D. y Leary, J. 1999. Análisis Instrumental. Interamericana McGraw-Hill. Madrid, España. 935 p.

Smith, C. y Reynard, A. 1993. Farmacología. Editorial Médica Panamericana. 1135 p.

Sumano, H. y Ocampo, L. 1997. Farmacología Veterinaria. McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. de C.V. 680 p.

Stolker, A. y Brinkman, U. 2005. Mass spectrometry: Innovation and application. Part IV. Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents in food-producing animals—a review. [Journal of Chromatography A. 1067\(1-2\):15-53.](#)

Straw, B.; Zimmerman, J.; D'Allaire, S. y Taylor, D. 2006. Diseases of Swine. 9th Edition. Blackwell Publishing. 1153 p.

Vásquez-Moreno, L.; Bermúdez, M.; García, L.; Languré, A.; Flores, M. y Orantes, C. 2002. Estudio de residuos tóxicos en tejidos animales destinados al consumo. Revista Científica, FCV-LUZ/Vol.XII (3):186-192.