

Drogas veterinarias

Sustancia aplicada o administrada un animal destinado a la producción de alimentos, tanto con fines terapéuticos, profilácticos como de diagnóstico, o para modificar las funciones fisiológicas o el comportamiento, incluyendo la manipulación genética.

Residuos de drogas veterinarias.

Sustancia que permanece en el organismo como consecuencia de un tratamiento.

Incluye los productos originales y sus metabolitos en cualquier porción comestible del producto animal; así como los residuos de impurezas relacionados con el medicamento veterinario correspondiente.

Bases Técnicas

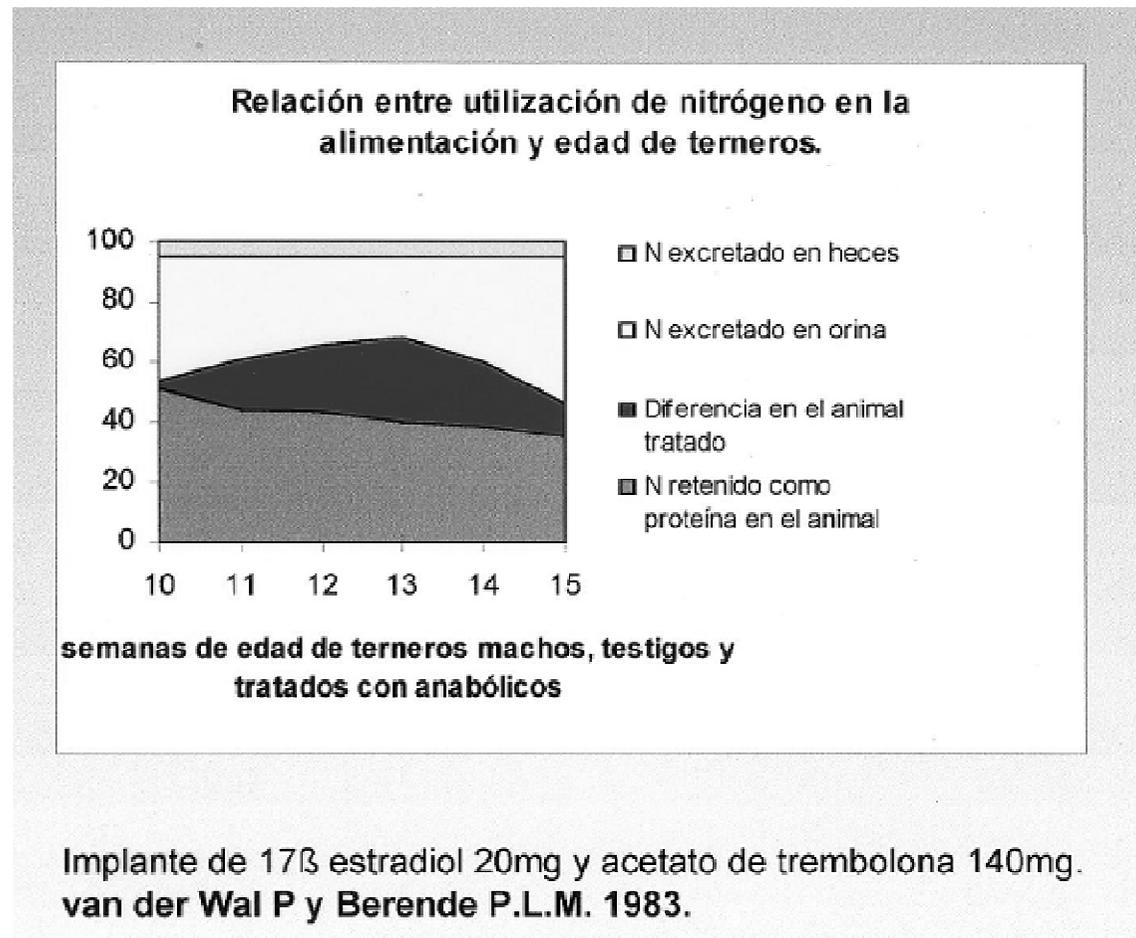
Frente a todo caso donde la tecnología química, deja residuos o producto de transformación en los tejidos animales, que sucedaneamente son también alimentos para el ser humano, deben hacerse tres preguntas:

- ¿Una simple molécula del producto es suficiente y tiene efecto para producir mutaciones en el ADN?
- ¿Qué relación tiene el nivel de residuo acumulado con las dosis tóxicas?
- ¿las técnicas analíticas son confiables en selectividad y sensibilidad para detectar el producto en los tejidos animales?

Anabólicos.

Los anabólicos se suministran al ganado para mejorar su relación de carne a grasa, produciendo aumentos en la ganancia de peso y una mejora en la conversión del alimento por el animal.

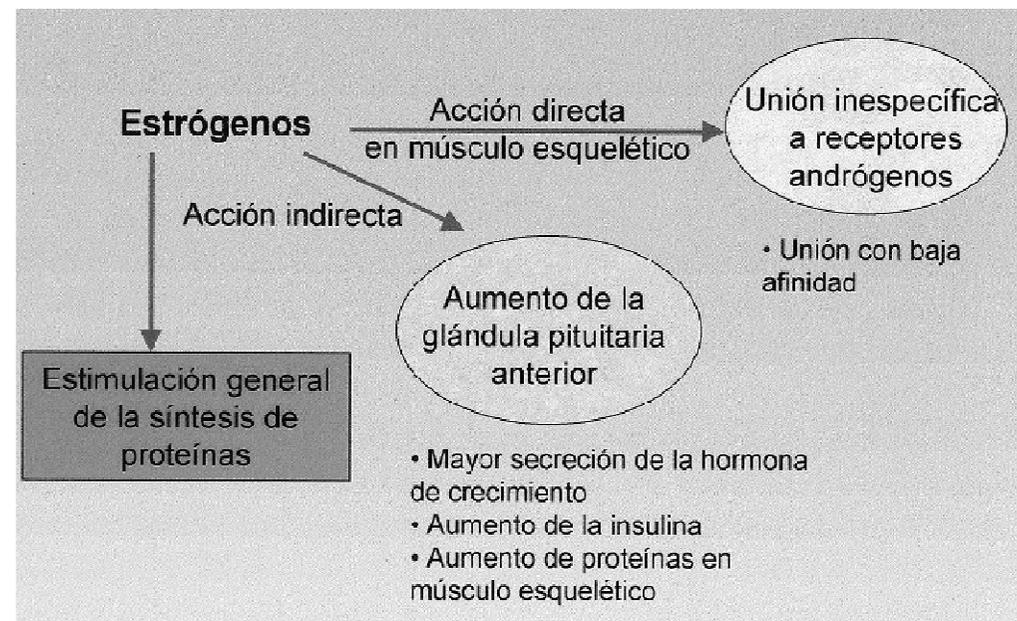
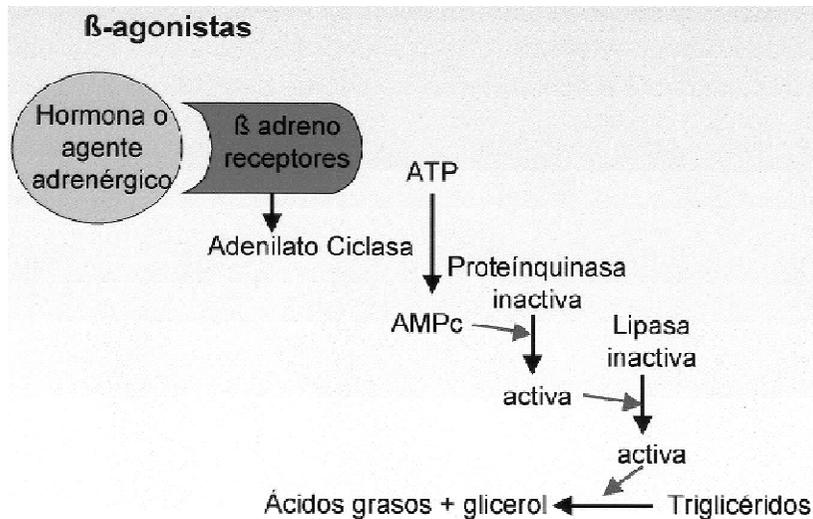
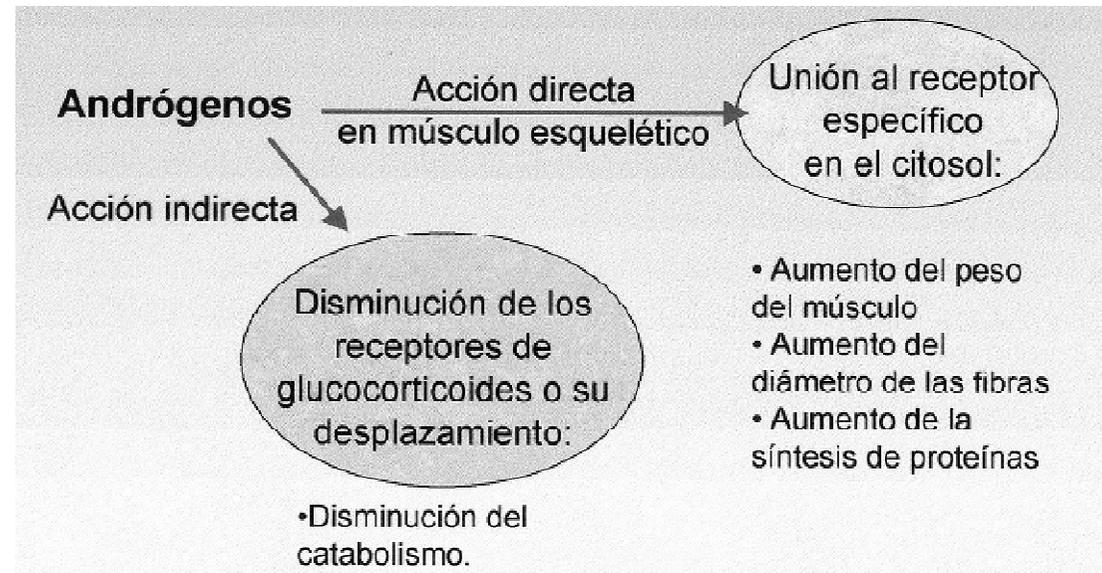
Sustancias capaces de incrementar la retención del nitrógeno, aumentando la acumulación de proteínas. (FAO/OMS, 1975)



Clasificación:

- Hormonas naturales: testosterona, 17β estradiol, progesterona, estrona.
- Xenobióticos no estilbenos: zeranol, trembolona, melengstrol.
- Estilbenos: dietilestilbestrol (DES), hexoestrol, dienestrol.
- Beta agonistas: clenbuterol, cimaterol, mabuterol, ractopamina, salbutamol.
- Hormonas del crecimiento: somatotropina y compuestos relacionados.

Modo de acción.



Efectos Tóxicos.

Actividad epigénica: se unen a los receptores celulares que reaccionan con el metabolismo proteico, favoreciendo: el crecimiento y la multiplicación celular.
(Zeranol)

Actividad mutagénico y carcinogénico: actúan sobre el genoma ocasionando mutaciones, pueden transmitirse a la progenie, generación de tumores. (DES)

Factor de seguridad: 100 - 1000

Nivel de Dosis Sin Efecto Observable (NOEL)
en el caso de **anabólicos**: la más alta dosis que no presente
ningún efecto hormonal **NHEL**.

Ingesta Diaria Aceptable (ADI):
máxima cantidad del medicamento que se puede recibir sin
ningún tipo de manifestación toxicológica.

$$ADI = NHEL / \text{Factor de seguridad}$$

Límite Máximo de Residuos (LMR):
máximo nivel de residuos que se puede aceptar en un
determinado alimento para que un humano que lo consume en
forma normal y abundante no supere el ADI para la droga en
cuestión

$$LMR = ADI * \text{peso corporal} / \text{Volumen de alimento ingerido por día}$$

Plan Nacional de control de residuos e higiene en alimentos (CREHA) SENASA

Control en plantas productoras de alimentos:

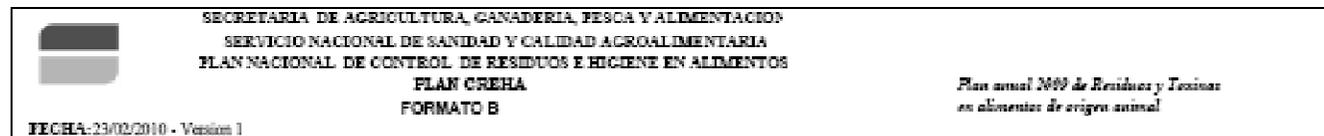
- permite determinar el grupo de residuos que entraña mayor riesgo para la salud pública.
- cumplir con las exigencias y los LMR admitidos por las legislaciones y normas nacionales e internacionales vigentes.
- Determina la cantidad de muestras a analizar para cada contaminante en una dada matriz.
- Recomienda técnicas
- Especifica el límite de detección que deben cumplir.
- Determina el nivel de residuos a partir del cual se deberán tomar acciones correctivas o sanciones.
- Este plan se modifica año a año.

Anabólicos:

El Plan 2005 indicaba el análisis de 1800 muestras de clenbuterol y 600 de zeranol en bovinos.

Durante el 2005 en bovinos se encontraron 2 muestras positivas de clenbuterol sobre 1275 muestras analizadas y 1 de zeranol sobre 261 muestras.

Por esto el Plan 2006 se indicó un incremento a 2100 muestras de clenbuterol y 1200 de zeranol en bovinos.



ABREVIATURAS Y DEFINICIONES

DEFINICIONES:

Muestreo de Insegado (Monitoreo): Es el muestreo que se aplica para obtener información de los niveles de ocurrencia de las sustancias.

En función de estadísticas anuales o puntuales se establece luego si se requiere la aplicación de un muestreo de Vigilancia o no.

Muestreo de Dirigido (Vigilancia): Es el muestreo aplicado a aquellas sustancias que pueden estar presentes a niveles no deseables en animales o en sus derivados.

Cuando una determinada sustancia se encuadre en este tipo de plan, las mercaderías deberán retenerse hasta que se obtengan los resultados de análisis.

Nivel de Acción: Concentración de una sustancia residual a partir de la cual se toman medidas correctivas.

BOVINOS

Grupo	Compuesto	Matriz	Método analítico	Límite de detección (ppb)	Nivel de Acción (ppb)	Nº Muestras	
ESTILBENOS	DIETILESTILBESTROL	Orina	RIA/IA	1 (Orina)	1 (Orina)	VIR 300	
	Animales vivos - Sist. No Ana y faenas todo destino	Hígado	C:CG/MS C:HPLC-MS-MS	0,1 (Hígado)	0,1 (Hígado)	Fil 30	
	HEXESTROL	Orina	RIA/IA C:CG/MS C:HPLC-MS-MS				
	DIENESTROL	Orina	RIA/IA C:CG/MS C:HPLC-MS-MS				
TIROSTATICOS	TAPAZOL / TIOURACILO PROPILTIOURACILO FENILTIOURACILO METILTIOURACILO En faenas con destino a carne con prohibido de uso de promotores de crecimiento	Tiroides	HPLC C:HPLC-MS C:HPLC-MS-MS	25	25	Fil 30	
SUSTANCIAS ESTROGÉNICAS	17 β -ESTRADIOL Muestras en Establecimientos Ruedes Inscritos en el Sistema No Ana y faenas todo destino	Suero	RIA/IA C:HPLC/RIA C:HPLC-MS-MS	0,005	0,04 M18 0,04 HNP18 0,04 CC MUSC 1	VIR 300 Fil 300	
	ZERANOL Muestras en Establecimientos Ruedes Inscritos en el Sistema No Ana y faenas todo destino	Suero	RIA/IA C:CG/MS C: HPLC-MS-MS	2,0	2,0 Musc.: 1	VIR 1200 FIR 300	
SUSTANCIAS ANDROGÉNICAS	17 β - Testosterona Muestras en Establecimientos Ruedes Inscritos en el Sistema No Ana y faenas todo destino	Suero	RIA/IA C:HPLC/RIA C:CG/MS C: HPLC-MS-MS	0,04	30 M18 10 M05 0,5 HNP18	VIR 300 Fil 30	
	Metiltestosterona *	Orina Hígado Músculo	RIA/IA C: HPLC-MS-MS C:CG/MS	0,04	Orina: 2 Hígado: 2 Musc.: 1	Fil 150	
	Nor - TESTOSTERONA (NANDROLONA) Muestras en Establecimientos Ruedes Inscritos en el Sistema No Ana y faenas todo destino	Orina Hígado	RIA/IA C:CG/MS	1 2	1 2	VIR 300 Fil 300	
	Músculo: productos importados		C: HPLC-MS-MS	1	1		
	BOLDENONA Muestras en Establecimientos Ruedes Inscritos en el Sistema No Ana y faenas todo destino	Orina Músculo: productos importados	C: G/MS HPLC-MS-MS	1	1	Fil 150	
	TREMBOLONA Muestras en Establecimientos Ruedes Inscritos en el Sistema No Ana y faenas todo destino	Orina Músculo: productos importados	RIA/IA C: CG/MS C: HPLC-MS-MS	1	1	VIR 300 Fil 300	
	RESIDUO MARCADOR ESTANOSOLOL	Orina Músculo: productos importados	HPLC-MS-MS	1	1	Fil 300	
BETA.AGONISTAS	CLEMBUTEROL Muestras en Establecimientos Ruedes Inscritos en el Sistema No Ana y faenas todo destino	Ojo (retina) Hígado	RIA/IA C: CG/MS C: HPLC-MS-MS	2 2 0,2	2 2 0,2	VIR 300 Fil 1500	
	BETA.AGONISTA AMINICOS	MABUTEROL	Ojo (retina)	RIA/IA	2	2	Fil 300
		BROMBUTEROL	Hígado	C: CG/MS C:HPLC-MS-MS	0,2	0,2	
MAREPENTEROL				5	5		
CIMATEROL CIMBUTEROL CLENPROPENOL				0,5	0,5		
BETA.AGONISTA FENOLICOS	RACTOPAMINA SALBUTAMOL	Ojo (retina) Hígado		10 1	10 1		
SUSTANCIAS GESTAGÉNICAS	ACETATOS DE : MEDROXIPROGESTERONA CLORMADINONA MEGESTROL MELENGESTROL	GRASA	CG-MS HPLC-MS-MS	1	1	Fil 300	

Antecedentes conflictivos

- En la década del '50 se utilizaba el DES en mujeres como terapéutica endocrinológica en tratamiento de disfunciones estrogénicas.
 - En las décadas del '60 y '70 comenzaron a detectarse vinculaciones con alteraciones tumorales de transmisión hereditaria. EE.UU.
 - En 1977 se detectó en 150 niños, telarquias. Se lo relacionó con derivados cárneos de pollo y terneros. Italia
 - En 1980, 450 muestras de "Baby food" se encontraron contaminadas con DES. Italia
 - En 1982 se denuncia una insidencia importante de contaminación de alimentos con estrógenos (supuestamente DES). Se denuncian más de 450 casos de telarquias prematuras en niños. Pto. Rico
-
- En 1990, 135 casos de intoxicación por consumo de hígado bovino, fueron detectados. Se identificó Clenbuterol en orina de pacientes y en el hígado consumido. España.

Anabólicos. Legislación.

- **Unión Europea:** Se prohíbe el uso de anabólicos desde 1988. Se extiende ésta política a otros países que deseen exportarle.
- **Estados Unidos:** El DES está prohibido desde 1971. El Zeranól fue registrado en 1969 y la Trembolona, finalmente, en 1987. Los anabólicos permitidos son ampliamente usados en ese país.
- **Argentina:** Desde 1961 se prohíbe el uso de estrógenos naturales y sintéticos, pero no de andrógenos. El Zeranól y la Trembolona están permitidos tomando un período de retiro de 60 días antes de la faena. En 1992 se dictó una resolución que permite mediante controles satisfacer las normas de importación de la Unión Europea.

Análisis de Residuos.

Farmacocinética. Para establecer tiempos de espera.

Biodistribución. Para elegir la mejor matriz de análisis.

Metabolitos. Para determinar el analito a detectar.



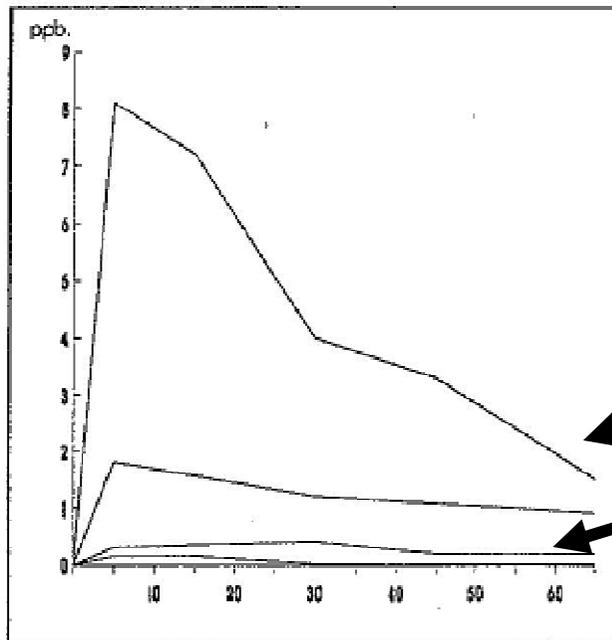
Desarrollo de técnicas selectivas y sensibles.

Farmacocinética.

1. Absorción. Vía. gastrointestinal, piel, pulmones, etc.
2. Circulación y distribución. Depende de:
permeabilidad de la membrana, canales, hidrofiliidad del compuesto, tamaño y carga eléctrica, circulación sanguínea del órgano, acumulación en tejido adiposo.
3. Metabolismo o biotransformación. Principalmente en hígado, aumenta la solubilidad en agua y la excreción.
4. Excreción. A través riñones (orina), intestino (heces), pulmones (exhalación), glándulas mamarias (leche).

Farmacocinética de implante de Zeranol.

Gráfico 1: Promedio total del 3H Zeranol residual en tejidos.



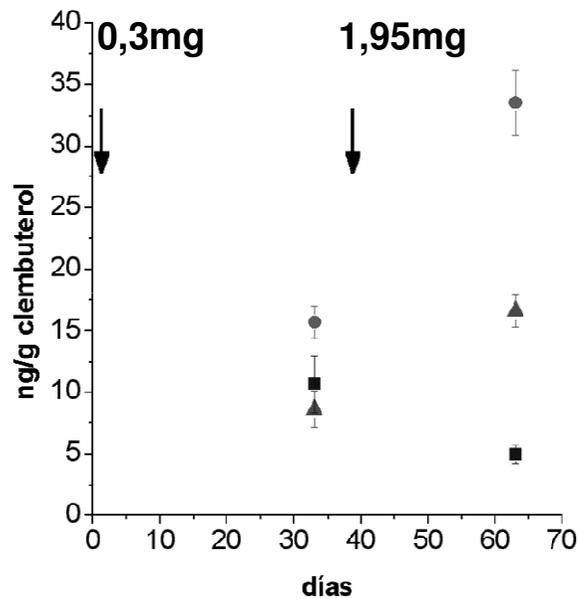
Hígado. 2ppb/g

Músculo. 0,01ng/g

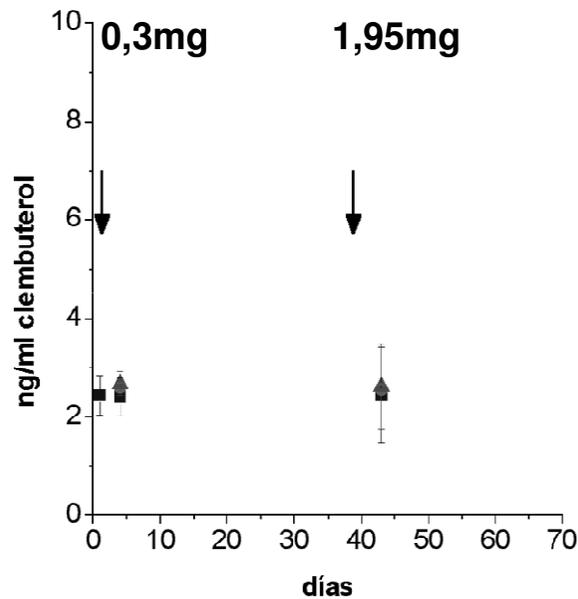
Farmacocinética de clenbuterol en bovinos

De tres novillos Holando-Argentinos, de 450kg, dos fueron tratados con clenbuterol.

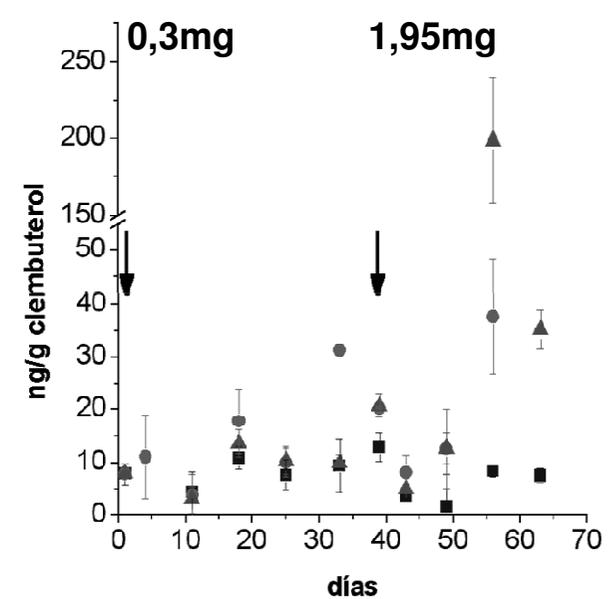
■ a689(control)
● b698
▲ c685



Acumulación total en pelo negro.



Detección en suero.



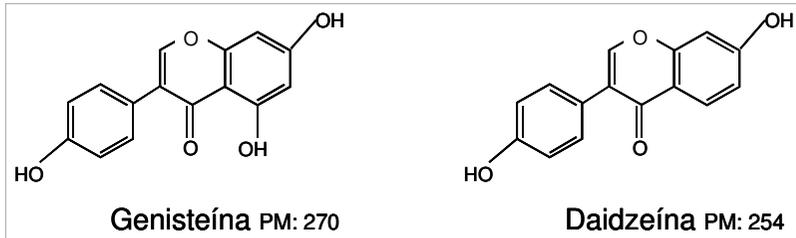
Acumulación secuencial pelo negro.

✿ **Por análisis de residuos de clenbuterol en pelo fue posible distinguir el uso terapéutico del anabolizante.**

Biodistribución.

- Dependencia de las características del compuesto, hidrofiliidad.
- Depende de la especie animal.
- Determina la matriz de análisis.

FITOESTRÓGENOS DE LA SOJA EN PRODUCTOS AVÍCOLAS. BIODISTRIBUCIÓN.

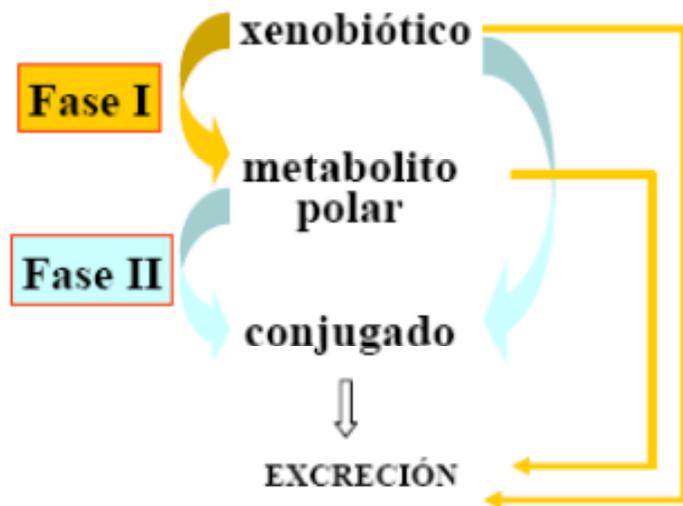


	Daidzein µg/g		Genistein µg/g	
Testículo	0,394	0,123	0,293	0,113
Cerebro	0,082	0,020	0,074	0,022
Pulmón	0,041	0,013	0,028	0,005
Hígado	0,325	0,119	0,187	0,026
Riñones	0,057	0,013	0,049	0,018
Corazón	0,029	0,004	0,018	0,001
Pechuga	0,041	0,006	0,027	0,003
Muslo	0,037	0,012	0,022	0,001

Metabolismo.

Las reacciones de biotransformación o metabolización de xenobióticos...

...son los procesos enzimáticos a los que se ven sometidos los xenobióticos en el organismo tendientes, en general, a su eliminación y neutralización



Reacciones de biotransformación

FASE 1

Oxidaciones, reducciones o hidrólisis que convierten los xenobióticos en metabolitos más polares.

FASE 2

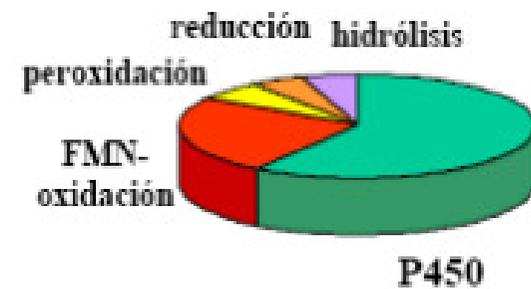
Conjugación de los xenobióticos, o sus metabolitos, con moléculas endógenas polares.

Fase I del metabolismo de xenobióticos

Oxidación	Citocromo P-450 Flavin monooxigenasa Alcohol deshidrogenasa Aldehido deshidrogenasa Xantina oxidasa
Reducción	Citocromo P-450
Hidrólisis	Esterasas
Hidratación	Epóxido hidratasa
Isomerización	Isomerasas



Tejidos de metabolización

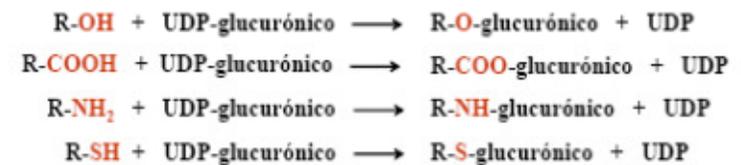


Enzimas de fase I

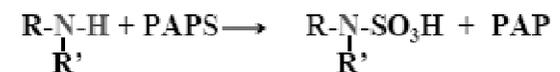
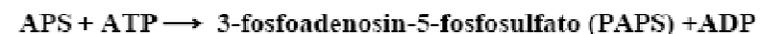
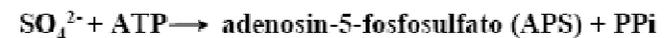
Enzimas de Fase II

<i>Enzima</i>	<i>Sustrato endógeno</i>
UDP-glucuroniltransferasa	UDP-glucurónico
UDP-glucosiltransferasa	UDP-glucosa
Sulfotransferasa	3-Fosfoadenosin-5-fosfosulfato
Acetiltransferasa	Acetil-coenzima A
Metiltransferasa	S-adenosilmetionina (SAME)
Glutation S-transferasa	Glutation
N-aciltransferasa	Aminoácidos (gly, gln)

Conjugación con glucurónico



Conjugación con sulfato



Estudios de Metabolitos.

La molécula de una droga puede sufrir muchos cambios en el animal vivo.

El hígado es el principal órgano involucrado en la transformación de xenobióticos.

Biotransformaciones en cultivo de hepatocitos bovinos.

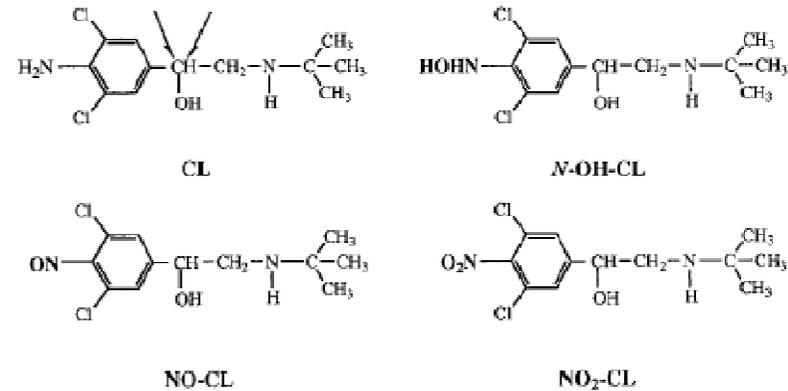


FIG. 1. Structures of CL and N-oxidized metabolites of CL.

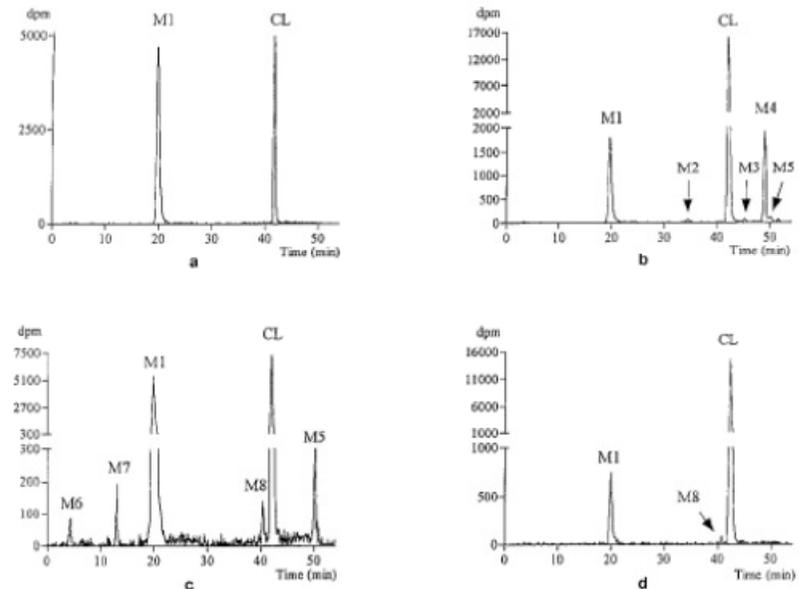
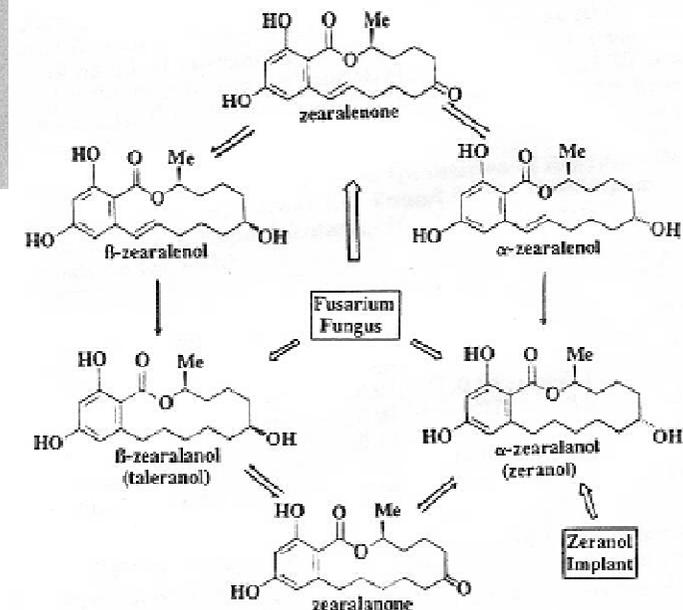


FIG. 2. ¹⁴C-radio-HPLC profiles obtained from incubation media of CL incubations with rat liver microsomes (25 μM CL) (a), bovine liver microsomes (12.5 μM CL) (b), rat liver slices (12.5 μM CL; incubation time, 4 hr) (c), and bovine liver slices (12.5 μM CL; incubation time, 4 hr) (d).

Análisis de metabolitos.

- Metabolitos presentes en cantidades mayores que la droga original.
- Metabolitos más accesibles o mejor indicados para el análisis.
- Metabolitos determinados además de la droga original para interpretar los resultados del análisis.
- Los metabolitos ayudan a determinar el origen endógeno o exógeno del anabólico.

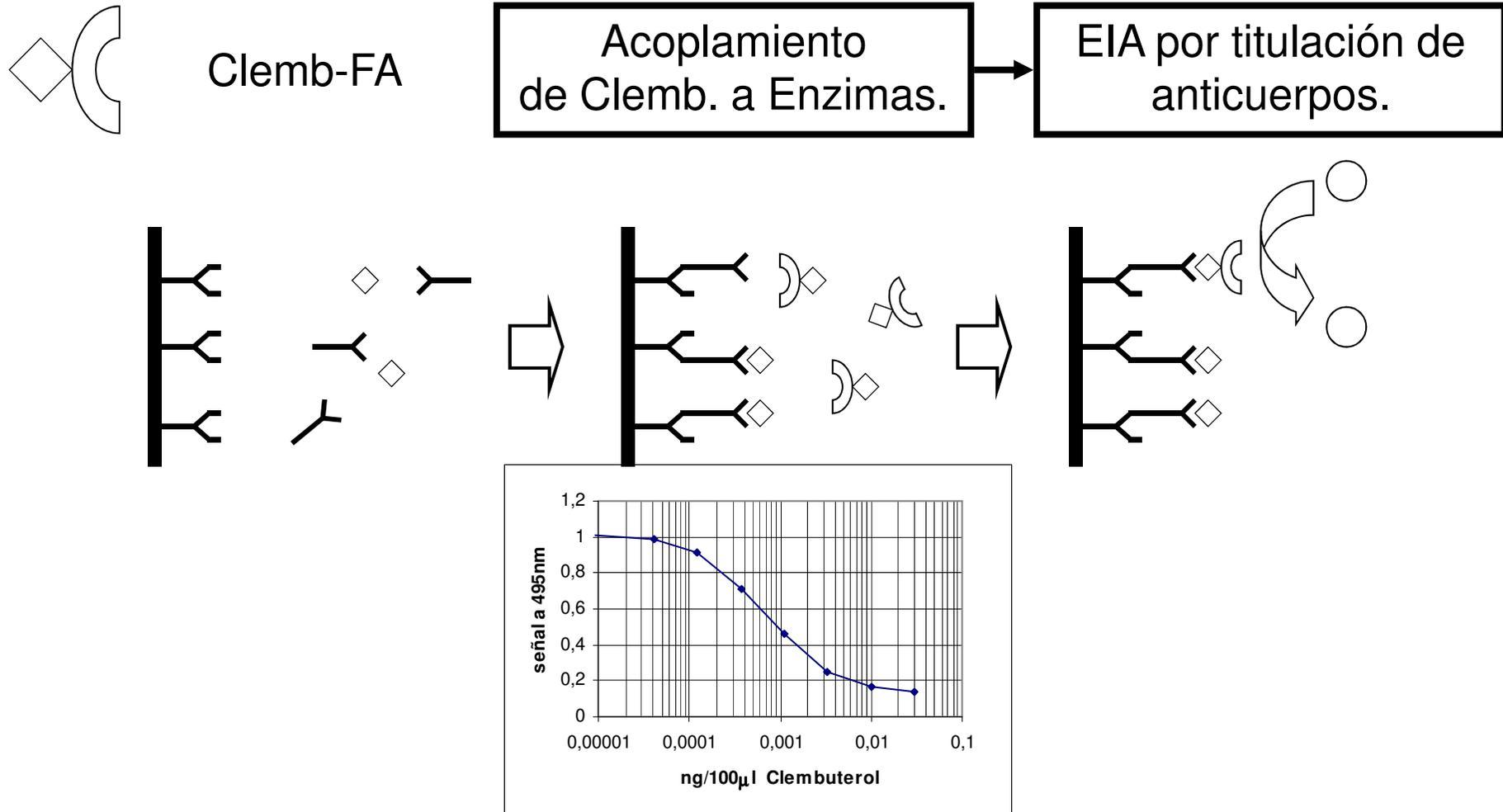


Análisis de Residuos.

- Técnicas de monitoreo y confirmación.
- Técnicas selectivas y sensibles.
- Inmunológicas: RIA, ELISA.
- Cromatográficas: HPLC- UV, MS, Fluorescencia.

Desarrollo de técnicas para la determinación de residuos de drogas veterinarias.

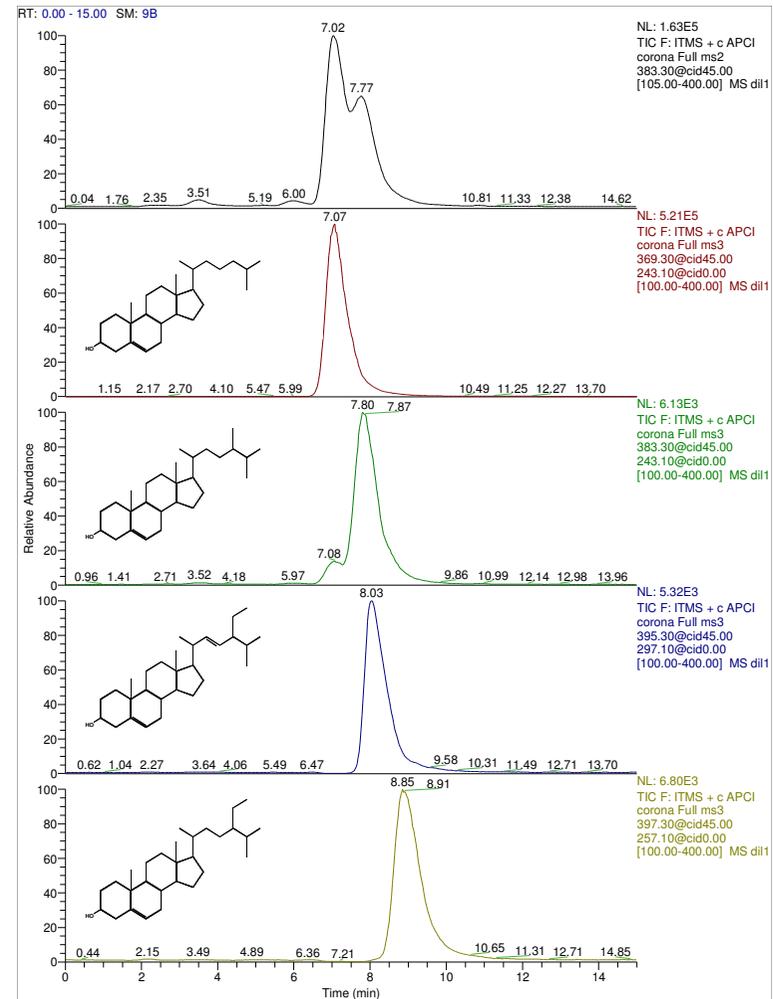
Enzimoimmunoensayo para clenbuterol.



Curva de calibración 0,01- 0,0001ng/100µl de clenbuterol.

ANÁLISIS DE FITOESTEROLES EN TEJIDOS ANIMALES CON ALTO CONTENIDO DE COLESTEROL POR HPLC-APCI-MS.

Transiciones	ms ¹ -ms ²
<p>Interferencia en ms¹</p> <p>[M+H-H₂O]⁺ Campesterol [M+H-4H]⁺ Colesterol</p>	<p>m/z 383.3</p> <p>Ion precursor común</p>
<p>Colesterol Mr. 386,7 (1.000 ppm)</p>	<p>m/z 369,3-243,1</p>
<p>Campesterol Mr. 400,7 (2,3 ppm)</p>	<p>m/z 383,3-243,1</p>
<p>Stigmasterol Mr. 412,7 (2,93 ppm)</p>	<p>m/z 395,3-297,1</p>
<p>β-Sitosterol M. 424,7 (3,81 ppm)</p>	<p>m/z 397,3-257,1</p>



Residuos de drogas veterinarias. Tendencias.

- Los LMR están siendo revisados continuamente, de acuerdo con la introducción de nuevas técnicas de análisis.
- En Argentina existe una dependencia de la legislación con los países compradores, en las exigencias sobre los análisis de residuos. Nuevas técnicas, que requieren equipamiento costoso. Limitación en la capacidad de análisis.
- Protocolos de producción vinculados a sistemas de control, que permita el análisis en etapas anteriores de la producción, donde técnicas de menor sensibilidad puedan ser eficientes. Atacar el problema donde sucede y no donde se lo detecta.
- Desarrollo de metodologías rápidas o alternativas. Biosensores.

Residuos de drogas veterinarias. Tendencias.

- Introducción de nuevas matrices de análisis debido a un mayor conocimiento sobre acumulación y metabolismo de las sustancias.
- Nuevos alimentos, cultivos regionales, aportarán nuevas matrices de análisis de residuos.
- Es de esperarse que la exportación apunte a productos con mayor valor agregado, mayor industrialización de los alimentos. Nuevas matrices: análisis de alimentos procesados.
- La producción intensiva va a requerir de la introducción de nuevas tecnologías. Controles a los suplementos veterinarios.