



Farmacología, toxicología e inocuidad de productos pecuarios

Revista
Colombiana de
Ciencias
Pecuarias

Aplicación de la espectrofotometría ultravioleta-visible para la determinación de 5-(hidroximetil)-2-furaldehído (HMF) en leches comerciales

Application of the UV spectrometry for 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) determination in commercial milks

Maite del P Rada Mendoza¹, Sandra P Rojas Fernández, Héctor S Villada²

¹Departamento de Química, Grupo de Investigación Bicamsa, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación, ²Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Grupo De Investigación: Asubagroin, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad del Cauca. Calle 5 N° 4-70. Sector Tulcán. Popayán, Colombia.

mrada@unicauca.edu.co

La leche contiene elementos necesarios para el organismo y componentes únicos que la hacen imprescindible para una correcta nutrición, tales como agua, proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales, en una proporción que varía según la raza, alimentación, época de lactancia ó del año, entre otros. Dada su composición, además de ser un alimento excelente para el hombre, es un caldo de cultivo ideal para los microorganismos; por ello, es necesario asegurar que la leche para consumo humano, sea un producto sano de óptima calidad, realizando procesos adecuados (ejemplo, los tratamientos térmicos) que destruyan los microorganismos patógenos y prolonguen la vida útil del producto; como desventaja, estos procedimientos pueden causar modificaciones en los componentes de la leche y a su vez, estos mismos pueden sufrir alteraciones como consecuencia del calentamiento, tales como la reacción de Maillard, descomposición con formación de ácidos orgánicos, etc., que disminuyen el valor nutritivo de la leche. Uno de los productos intermedios de la reacción de Maillard, es el HMF, producto de la degradación térmica de las hexosas y un reconocido indicador del deterioro térmico, que conduce a la formación de pigmentos oscuros (melanoidinas) y que ha sido determinado en gran variedad de alimentos sometidos a procesos de calentamiento ó almacenamiento inapropiado y prolongado, entre los que se encuentran la leche y productos lácteos, que son muy susceptibles al pardeamiento no enzimático durante los tratamientos térmicos a los que se someten, por su alto contenido en lactosa y lisina. Para este estudio, se adquirieron 21 tipos de leches UHT con diferentes contenidos de grasa y enriquecidas con vitaminas, minerales, fibra y deslactosadas, a las cuales se les evaluaron parámetros fisicoquímicos (grasa, densidad, acidez, proteína, extracto seco total, extracto seco desengrasado, pH y cenizas) y microbiológicos (reductasa y fosfatasa); los valores obtenidos estuvieron de acuerdo con lo reportado por el Ministerio de Salud y por tanto, la leche es

apta para el consumo humano. Los datos de acidez, pH y proteína, no mostraron diferencias significativas ($p < 0.01$). En estas leches se cuantificó además el HMF por espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 285 nm, utilizando curva de calibración y cada análisis se realizó por triplicado; los contenidos de HMF estuvieron comprendidos entre 0.55 y 3.54 mg/ml y no mostraron influencia por la composición en grasa ni en vitaminas. Las leches deslactosadas, mostraron los más bajos niveles de HMF, y las enriquecidas con minerales las mayores. En general, la variación encontrada en los valores de HMF, puede deberse a las diferencias en el tratamiento térmico al que se sometieron las leches y a su posterior período y condiciones de almacenamiento. Se determinaron además los parámetros de linealidad ($r = 0.9965$), precisión (inferior a 5.10%), límites de detección (0.014 mg/ml) y de cuantificación (0.046 mg/ml) y porcentajes de recuperación (alrededor del 91%).

Palabras clave: control de calidad, hidroximetilfurfural, leches enriquecidas, parámetros fisicoquímicos, parámetros microbiológicos

Key words: enriched milks, hydroxymethylfurfural, microbiological parameters, physicochemical parameters, quality control

Detección, identificación y cuantificación de residuos de algunos antimicrobianos en carne bovina

Detection, identification and quantitation of some antimicrobial residues in meat

Karen L Vela Perdomo¹, Martha C Suárez Alfonso², Mc Allister Tafur Garzón³

¹ Maestría en Ciencias-Farmacología, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Bogotá, Colombia.

² Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Bogotá, Colombia.

³ Instituto Colombiano Agropecuario, Bogotá, Colombia.
klvelap@unal.edu.co, mcsuarez@unal.edu.co, mcallister.tafur@ica.gov.co

En medicina veterinaria los antimicrobianos son usados con fines terapéuticos, profilácticos y/o productivos. La presencia de residuos en los alimentos de origen animal es un grave problema de salud pública, que puede afectar la salud del consumidor por reacciones alérgicas, alteraciones de la microbiota intestinal o selección de bacterias resistentes. El documento CONPES 3376 del Consejo Nacional de Política Económica y Social en el marco de la aplicación del Acuerdo sobre Medidas Sanitarias y Fitosanitarias MSF, plantea que las condiciones de sanidad e inocuidad de la carne son un requisito indispensable para mejorar la competitividad y acceder a los mercados internacionales. Es

importante conocer el estatus de residuos de antibacterianos en Colombia, mediante la técnica analítica microbiológica de "Bioensayo" para la determinación cualitativa y cuantitativa de residuos de algunos antimicrobianos en carne de bovinos procedentes de diferentes regiones del país. Detectar, identificar y cuantificar residuos de cuatro antimicrobianos en músculo diafrágmatico de bovinos en el "Frigorífico Guadalupe" en la ciudad de Bogotá, como contribución al sistema de gestión de inocuidad en el marco de aplicación de MSF. Adecuar un bioensayo para la detección e identificación de residuos de penicilina G, tetraciclina, estreptomicina y eritromicina en músculo diafrágmatico de bovinos beneficiados, con la metodología de referencia del "Servicio de Inspección de Inocuidad de Alimentos" FSIS de los Estados Unidos. Los objetivos del estudio incluyen: 1) calcular la concentración de residuos de penicilina G, tetraciclina, estreptomicina y eritromicina mediante la técnica de bioensayo descrita por el FSIS; 2) evaluar el cumplimiento de los límites máximos de residuos (LMRs) establecidos por el ICA y del "tiempo de retiro" de los cuatro antimicrobianos evaluados, para contribuir a la protección de la inocuidad alimentaria; y 3) relacionar la presencia de los residuos de acuerdo al género, edad y procedencia de los bovinos beneficiados. Se tomará una muestra aleatoria representativa de músculo diafrágmatico de bovinos machos y hembras procedentes de diferentes zonas de Colombia beneficiados en el "Frigorífico Guadalupe" (nivel de confianza del 95% y error de muestreo del 10%). Se propone analizar las matrices con un método microbiológico de referencia internacional, basado en inhibición de crecimiento de cuatro microorganismos (*Bacillus cereus*, *Kocuria rhizophila*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus epidermidis*) en diferentes medios de agar a tres pHs distintos (4.5-6.0-8.0). El método desarrollado en siete placas detecta e identifica residuos de β-lactámicos (penicilina G), tetracíclinas (oxitetraciclina), aminoglicósidos (estreptomicina) y macrólidos (eritromicina) a concentraciones inferiores a los LMRs establecidos en el país. Se espera estandarizar una herramienta analítica que contribuya al "Programa de Control de Residuos de Medicamentos Veterinarios" garantizando la inocuidad alimentaria para mejorar las condiciones sanitarias y cumplir las reglas del comercio internacional de alimentos de origen animal.

Palabras claves: *bioensayo, LMRs, microbiología analítica, resistencia antimicrobiana, tiempo de retiro*

Key words: *analytic microbiology, antimicrobial resistance, bioassay, MLRs, withdrawal period*

Efecto del clorpirifós 0,0-dietil 0-(3, 5, 6-tricloro-2-piridil fosforotioato) en machos juveniles de tilapia (*Oreochromis spp*)

Effects of chlorpyrifos 0,0-dietil 0-(3, 5, 6-tricloro-2-piridil fosforotioato) in male juvenile tilapia (*Oreochromis spp*)

DA Aranzazu Taborda¹; BJ Rodríguez¹; L Arboleda Chacón²

¹ Centauro (Grupo de Investigación en Ciencias Veterinarias), Escuela de Medicina veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

² Grupo de Investigación en Acuacultura. Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid. Medellín, Colombia.

daranta7@ agronica.udea.edu.co

La exposición de los seres vivos a químicos disruptores endocrinos es universal ya que éstos se encuentran repartidos por todo el

mundo como consecuencia de un empleo generalizado. En Colombia el clorpirifós es el compuesto organofosforado de mayor participación porcentual respecto al total de ventas de este grupo de insecticidas. La tilapia es la especie de cultivo de mayor producción en Colombia y esta generalmente se ubica en áreas geográficas cuyas aguas reciben probablemente los residuos tóxicos de las explotaciones agropecuarias ubicadas en zonas más altas, particularmente en el departamento de Antioquia. Hasta donde se conoce no hay estudios en tilapias juveniles (*Oreochromis spp*) en el ámbito mundial ni en nuestro medio, que valoren el potencial de disruptión del clorpirifós por análisis histológico e inmunohistoquímico de la inducción de la vitelogenina (Vtg) hepática. Por lo tanto el objetivo general de este estudio es determinar los efectos de la exposición subaguda al clorpirifós en órganos blanco de disruptión endocrina en peces juveniles machos de tilapia (*Oreochromis spp*). El experimento de dosis subletal, se realizará en un sistema semiestático, con recambio diario del 50% del volumen de agua manteniendo la concentración correspondiente en cada grupo experimental mediante la adición de la mitad de la dosis hasta el día 28. El clorpirifos a utilizar como marca comercial será el Lorsban®4EC. Las concentraciones para la exposición serán de 4, 8, y 12 µg/l, teniendo como base los estudios previos de toxicidad con clorpirifos realizados por otros autores en machos juveniles de tilapia. Con cada dosis se tratarán 12 juveniles, con tres replicas para cada concentración. Los grupos establecidos como control no recibirán dosificaciones con clorpirifós. Se realizará el estudio anatopatológico de tres animales por grupo, por cada semana, considerando los peces muertos y los vivos, y durante el desarrollo de la fase experimental de 28 días. Se calcularán los índices hepatosomal y gonadosomal y se realizará la toma de muestras para estudio histopatológico en cada uno de los animales del estudio de hígado, gónadas, branquias, riñón y cerebro. Las muestras de tejido se procesaran por histopatología de rutina. Los resultados que se esperan obtener son: caracterizar las lesiones causadas por la exposición subaguda al clorpirifos a 28 días, determinar la presencia de lesiones características de disruptión endocrina y la relación dosis-respuesta para el cuadro de lesiones en el tiempo y, por último, verificar la inducción de Vtg en el hígado durante un periodo de 28 días y las diferencias en su expresión con relación a los tiempos 7, 14, 21 y 28 días.

Palabras clave: *disrupción endocrina, compuestos organofosforados, biomarcadores*

Key words: *biomarkers, endocrine disruption, organofosforados compounds*

Determinação da persistência e degradação do fipronil no meio aquático e no sedimento em condições do laboratório

Determination of persistence and degradation of fipronil on aquatic mean and its sediment in laboratory conditions

W Gómez-Manrique¹, MS; Neto J Gonçalves-M², PhD.

¹ Mestrado em Aquicultura de Águas Continentais, Centro de Aquicultura CAUNESP/UNESP, Campus de Jaboticabal-SP, Brasil.

² Departamento de Fitossanidade da FCAV/UNESP - Campus de Jaboticabal-SP, Brasil.
joaquim@fcav.unesp.br

Introdução: os agrotóxicos são cada vez mais utilizados na agricultura para evitar as perdas de produtividade causadas por

insetos, ácaros, plantas daninhas, fungos, entre outros. Porém, o uso desordenado e excessivo destes produtos tóxicos, tem provocado impactos negativos no meio ambiente. O acúmulo dos resíduos tóxicos nas cadeias alimentares, depende da disponibilidade e da persistência dos contaminantes na água e especialmente de suas características físicas e químicas. O fipronil é um inseticida de segunda geração do grupo dos fenilpirazois, desenvolvido por Rhône - Poulenc Agro. É de ampla ação, e atua nas comportas dos canais de cloro, bloqueando a ação inibitória do ácido gamma aminobutírico no sistema nervoso central, causando hiper-excitação, podendo levar à morte. Sua utilização é maior na cultura de cana-de-açúcar, e está sujeito a lixiviação para a rede hidrográfica. Objetivo: Determinar a persistência e degradação do fipronil, com base em testes ecotoxicológicos agudos com peixes (*Poecilia reticulata*), na acumulação e degradação no sedimento e na água em condições de laboratório mediante cromatografia gasosa. Materiais e Métodos: Os testes serão realizados de acordo com as normas estabelecidas pela CETESB e IBAMA. Para a determinação da concentração letal 50 (CL_{50}) se utilizarão concentrações de 0.01, 0.025, 0.05, 0.10, 0.125, 0.15 mg/l, e o controle, com cinco peixes em cada aquário com capacidade de 5 l de água e três repetições em cada uma; será utilizado o cromatógrafo gasoso Varian CP-3800, equipado com um detector de captura de elétrons e uma coluna capilar modelo SE-30 (15 x 0.53 mm), para o "clean up" será usada uma coluna de 2 m x 15 mm com 100 ml de reserva do solvente, empacotada com lã de vidro e coberto com 1 ml de anidro de sulfato de sódio. A coluna será acondicionada com 30 ml de acetona e benzene, respectivamente, e as amostras concentradas serão adicionadas, esta será lavada com 70 ml da mistura de benzene e acetonitrila (70:30, v/v). Será coletada a fração pura e colocada no rotaevaporador (água a 80 °C) para sua evaporação. A ressuspensão será feita com 10 ml acetato de etila antes da análise cromatográfica. Resultados esperados: Determinar a degradação que tem este inseticida no ambiente aquático e no sedimento, para estabelecer parâmetros de biosegurança na aplicação do inseticida nas diferentes culturas com o mínimo impacto ambiental.

Palavras chaves: cromatografia gasosa, CL_{50} , inseticida, *Poecilia reticulata*, sistema nervoso central, toxicidade aguda

Key words: aquatic toxicology, gaseous chromatography, insecticide, LC_{50} , nervous central system, *Poecilia reticulata*

Detección, identificación y cuantificación de residuos de algunos antimicrobianos en carne bovina

Detection, identification and quantitation of some antimicrobial residues in meat

Karen L Vela-Perdomo¹, Martha C Suárez-Alfonso²,
Mc Allister Tafur-Garzón³

¹Departamento de Farmacia Universidad Nacional de Colombia.
Bogotá, Colombia.

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia.
Bogotá, Colombia.

³Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá, Colombia.
mcallister.tafur@ica.gov.co

En medicina veterinaria los antimicrobianos son usados con fines terapéuticos, profilácticos, o productivos. La presencia

de residuos en los alimentos de origen animal es un grave problema de salud pública, que puede afectar la salud del consumidor por reacciones alérgicas, alteraciones de la microbiota intestinal o selección de bacterias resistentes. El documento CONPES 3376 del Consejo Nacional de Política Económica y Social en el marco de la aplicación del Acuerdo sobre Medidas Sanitarias y Fitosanitarias MSF, plantea que las condiciones de sanidad e inocuidad de la carne son un requisito indispensable para mejorar la competitividad y acceder a los mercados internacionales. Es importante conocer el estatus de residuos de antibacterianos en Colombia, mediante la técnica analítica microbiológica de "Bioensayo" para la determinación cualitativa y cuantitativa de residuos de algunos antimicrobianos en carne de bovinos procedentes de diferentes regiones del país. El objetivo general es detectar, identificar y cuantificar residuos de cuatro antimicrobianos en músculo diafragmático de bovinos en el "Frigorífico Guadalupe" en la ciudad de Bogotá, como contribución al sistema de gestión de inocuidad en el marco de aplicación de MSF. Los objetivos específicos incluyen: 1) adecuar un bioensayo para la detección e identificación de residuos de penicilina G, tetraciclina, estreptomicina y eritromicina en músculo diafragmático de bovinos beneficiados, con la metodología de referencia del "Servicio de Inspección de Inocuidad de Alimentos" FSIS de los Estados Unidos; 2) calcular la concentración de residuos de penicilina G, tetraciclina, estreptomicina y eritromicina mediante la técnica de bioensayo descrita por el FSIS; 3) evaluar el cumplimiento de los Límites máximos de residuos (LMRs) establecidos por el ICA y del "Tiempo de retiro" de los cuatro antimicrobianos evaluados, para contribuir a la protección de la inocuidad alimentaria; y 4) relacionar la presencia de los residuos de acuerdo al género, edad y procedencia de los bovinos beneficiados. En los materiales y método, se tomará una muestra aleatoria representativa de músculo diafragmático de bovinos machos y hembras procedentes de diferentes zonas de Colombia beneficiados en el "Frigorífico Guadalupe" (nivel de confianza del 95% y error de muestreo del 10%). Se propone analizar las matrices con un método microbiológico de referencia internacional, basado en inhibición de crecimiento de cuatro microorganismos (*Bacillus cereus*, *Kocuria rhizophila*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus epidermidis*) en diferentes medios de agar a tres pHs distintos (4.5-6.0-8.0). El método desarrollado en siete placas detecta e identifica residuos de β-lactámicos (penicilina G), tetraciclinas (oxitetraciclina), aminoglucósidos (estreptomicina) y macrólidos (eritromicina) a concentraciones inferiores a los LMRs establecidos en el país. Resultados esperados: se espera estandarizar una herramienta analítica que contribuya al "Programa de Control de Residuos de Medicamentos Veterinarios" garantizando la inocuidad alimentaria para mejorar las condiciones sanitarias y cumplir las reglas del comercio internacional de alimentos de origen animal.

Palabras clave: bioensayo, LMRs, microbiología analítica, resistencia antimicrobiana, tiempo de retiro

Key words: analytic microbiology, antimicrobial resistance, bioassay, MLRs, withdrawal period

Evaluation of effect of ivermectin topically against *Otodectes cynotis* on dogs¹

Evaluación del efecto de la ivermectina tópica contra *Otodectes cynotis* en perros

John D Ruiz¹, DMV, MS; Julián A Orozco², cDMV; Germán D Quintero², cDMV.

¹Financiado por la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Universidad CES.

²College of Veterinary Medicine. CES University.

²College of Veterinary Medicine. Antioquia University.

Otodectes cynotis spreads readily both between and among dogs and cats. *O. cynotis* can parasitize human beings, with the most common manifestation of cases being a transient dermatitis. Invasion of the external auditory canal by *O. cynotis* has been reported in human beings, and is a condition that causes intense irritation. Control of *O. cynotis* is traditionally achieved by using preparations that must be instilled directly into the ear canal, and multiple treatments are usually necessary. This situation makes a little difficult the mite's treatment. The aim of the study reported here was to evaluate the efficacy and safety of ivermectin, applied once to the ear in a single spot, for treatment of naturally occurring infestations of *O. cynotis* on dogs. Dogs presenting as clinical cases of naturally acquired infestations of *Otodectes cynotis* were allocated randomly to treatment with ivermectin or a control product (glycerin carbonate) applied into the ears. Day 0 was defined as the first day of treatment (ivermectin or glycerin carbonate) for each ear. All the animals were assessed at the days 7, 14, 21, 28. The efficacy of an avermectin, ivermectin, was evaluated against naturally acquired aural infestations of *O. cynotis*. Ivermectin was administered topically in a single spot to the external auditory canal. There were assessed a total of 148 dogs, from which there were 20 (39 ears) dogs positive for *O. cynotis*. Clinical examination and visualization of mites by otoscopic examination of the external ear canal and microscopic examination of aural debris were performed once weekly from days 0, 7, 14, 21 and 28. Ivermectin was safe; parasites were killed before day 7. Ivermectin was 100% effective against natural aural infestations. The results of this field study suggest that a single topical application from a mixed of ivermectin and glycerin carbonate, until get a 0.01% concentration, at a dose of 1 ml administered topically to the external auditory canal, on day 0 is 100% effective against naturally occurring infestations of *O. cynotis* on dogs from 7 until 28 day posttreatment.

Palabras clave: ectoparásitos, insecticidas, oídos, sarna

Key words: ear: ectoparasites, insecticides, mites

Sublethal effects of endosulfan on haematology and whole-fish ions and protein concentration of adult zebrafish (*Danio rerio*)*

Efectos subletales de endosulfan sobre hematología y concentración de iones y proteína en adultos de zebrafish (*Danio rerio*)

Yohana M Velasco Santamaría^{1,2*}, Katherine A Sloman²

*Master Research project supported by the Programme Alþan, the European Union Programme of High Level Scholarships for Latin America, scholarship No. E06M103042CO

¹ Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos - GRITOX. Instituto de Acuicultura, Universidad de los Llanos, Colombia.

² School of Biological Sciences, University of Plymouth, Plymouth, PL4 8AA, United Kingdom.
ymvelasco@yahoo.com

Increases in the worldwide population and consequent food demands, has led to many developments to increase the productivity of food cultures. One aspect of this is the use of insecticides, developed as a strategy to increase agricultural productivity. Endosulfan, a chlorinated hydrocarbon, is an example of one of the most extensively used insecticides since 1950. Studies in fish and mainly mammals report acute toxic effects of endosulfan at different levels including haematology and blood biochemistry, behaviour, histopathology and reproduction; however, the information of sublethal toxicity is scarce. Therefore, in order to determine the effects on some haematological and biochemical parameters, adult zebrafish (*Danio rerio*) were exposed for 28 days to sublethal concentrations of endosulfan (0, 0.16 and 0.48 µg/l) using a semi-static system with an 80% water change every day. Fish were sampled after 0, 14 and 28 days of exposure using an overdose of MS-222. Caudal severance was then used to collect blood samples in heparinised microhaematocrit tubes. Blood cell count was determined with a Neubauer haemocytometer. In order to measure whole body protein and ion concentrations, whole-fish (n = 6/treatment) were frozen and ground under in liquid nitrogen and the tissue then divided into two fractions. One fraction was digested in 1N HNO₃ and then whole body ion concentration determined by inductively coupled plasma optical emission spectrophotometry (ICP-OES). The remaining fraction was homogenized in an ice-cold isotonic solution (pH 7.8) and total protein determined according to the Bradford method. During the first 14 days of exposure, the fish exposed to 0.16 µg/l of endosulfan showed a significantly lower red blood cell concentration (1.48 × 10⁶ cells/µl) and white blood cell concentration (7.3 × 10³ cells/µl) than fish exposed to 0.48 µg/l (2.65 × 10⁶ cells/µl and 11.3 × 10³ cells/µl, respectively) (p<0.05). In terms of whole-body ion concentration, after 28 days of exposure, the whole-body Ca²⁺ concentrations of the control fish (269 ± 9 µmol/g) and those exposed to 0.48 µg/l (261 ± 20 µmol/g) of endosulfan was lower than the Ca²⁺ concentration of the initial stock zebrafish before start the experiment (315 ± 19 µmol/g (p<0.05). The whole-body protein of fish exposed to 0.48 µg/l of endosulfan for 14 days was lower (56.9 ± 1.1 mg/g of tissue) than the control fish at the end of the experiment (63.8 ± 1.3 mg/g of tissue) (p<0.05). Finally, all treatments of endosulfan at both 14 and 28 days of exposure had higher concentration of protein (p<0.05) compared with the protein of the initial stock zebrafish. The present study reveals that sublethal concentrations of endosulfan could affect significantly the blood cell and protein concentration in *Danio rerio*; nevertheless, additional studies of osmoregulation and biochemistry are required in order to understand the impact of endosulfan on fish health.

Keywords: blood cells, calcium, fish, insecticide, protein, sub-acute toxicity

Palabras clave: calcio, células sanguíneas, insecticida, peces, proteína, toxicidad subaguda