

Anabólicos en producción de carnes

Seguridad Alimentaria

Las drogas veterinarias son herramientas importantes para la producción de alimentos, pero siempre que se utilice una tecnología que deje residuos en el animal deben evaluarse los riesgos potenciales para el hombre. Para Argentina, como país exportador, existe una implicancia adicional dado que cualquier episodio en este sentido puede conllevar a la pérdida de confianza por parte de los mercados internacionales

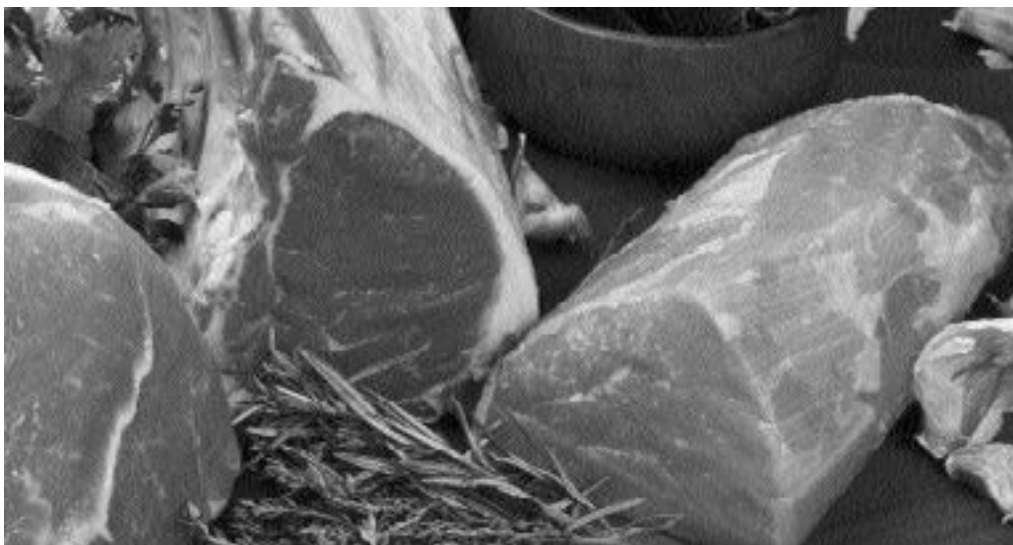
● Lic. Viviana G. Spotorno
Instituto Tecnología de Alimentos, INTA
Castelar

■ Una de las principales fuentes de proteínas complejas en la nutrición humana proviene de la actividad pecuaria. Las drogas veterinarias se utilizan tanto para combatir enfermedades como para garantizar la productividad, pero el empleo de estas sustancias debe estar reglamentado para preservar la salud del consumidor y la calidad final del alimento. Todos los productos veterinarios deben estar aprobados por las autoridades del país, antes de ser lanzados al mercado. Los procedimientos a seguir incluyen la crítica evaluación de la actividad farmacológica y toxicológica de sus ingredientes activos, el estudio de eficacia en la formulación involucrada, y el impacto en la salud del animal y el medio ambiente. En relación con los residuos, se debe prestar especial atención a la distribución de la droga en el cuerpo del animal, su perfil metabólico y la excreción del com-

puesto original y de sus metabolitos. A partir de la información cinética de la eliminación de la droga, se establecen tiempos de espera: intervalos entre la administración y la faena, que aseguran la eliminación del principio activo. Estos tiempos de espera están acompañados por la definición de límite máximo de residuos (LMR), definido como la cantidad residual de una sustancia que se considera sin efecto potencial para el consumidor. La implicancia de la aplicación de estos valores es evidente. Todas las drogas veterinarias deben tener un LMR, que es revisado según los nuevos datos científicos; además, se deben organizar estrictos planes de control para garantizar su cumplimiento.

ANABÓLICOS

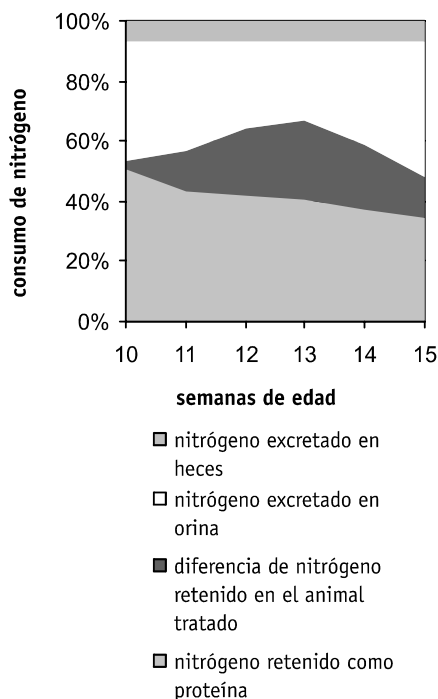
Se entiende por anabólicos a sustancias capa-



ces de incrementar la retención de nitrógeno aumentando la acumulación de proteínas en los animales (FAO/OMS, Roma 1975). También existen otras sustancias promotoras del crecimiento, pero que al actuar por otros mecanismos no pueden considerarse anabólicos. Los resultados del empleo de un anabólico, por su eficiencia en los procesos de engorde y el crecimiento, tienen respaldo en experiencias demostrativas y en la práctica diaria. Un trabajo realizado en 1983 sirve para ilustrar en qué porcentaje la proteína del alimento se convierte en elementos constitutivos del organismo y cómo este porcentaje se incrementa con un implante anabolizante (Fig. 1).

● Figura 1. Efecto de los anabólicos en los animales. Experiencia realizada en terneros implantados con 20mg de 17 β estradiol y 140mg de acetato de trembolona.

Relación entre la utilización de nitrógeno en la alimentación y la edad de los terneros



La magnitud de la respuesta fisiológica depende además de la especie, el sexo, la composición de la ración, la vía de administración y la frecuencia, y por supuesto del tipo de sustancia utilizada.

Los promotores del crecimiento pueden agruparse desde un punto de vista bioquímico como: naturales, xenobióticos no estilbenos, estilbenos, hormonas de crecimiento y compuestos afines y beta agonistas. Los compues-

tos naturales son hormonas generadas por el mismo organismo, cuya dosis para su función anabólica es significativamente menor que los niveles permanentes de la hormona en su función normal en el animal. Por lo tanto, la adición por vía de la ingesta de músculo implantado, es insignificante respecto de cualquier variación diaria en la fisiología en el ser humano. Ellas son testosterona, estradiol y progesterona. Para el control de sus residuos en los animales se establece un rango dentro de los niveles fisiológicos normales de animales no implantados.

Los xenobióticos no estilbenos, entre los que se encuentran el zeranol y el acetato de trembolona, poseen actividad androgénica o estrogénica. El LMR se establece por debajo del nivel de su actividad hormonal. La acción de las hormonas xenobióticas, como la de los esteroides naturales, se relaciona con el metabolismo proteico favoreciendo el crecimiento y la multiplicación celular. Aplicados en grados de concentración mucho mayores que los necesarios para su acción hormonal, favorecen la aparición de células atípicas en mayor número al que normalmente se producen en el organismo. En estos casos es necesaria la aplicación de un LMR que esté en relación con la ingesta diaria aceptable (IDA), que es la cantidad que puede comer diariamente un ser humano sin riesgo de ningún tipo de síntoma.

Otras sustancias, los estilbenos tienen actividad genotóxica; reaccionan con el genoma del núcleo de las células favoreciendo la formación de tumores. Su actividad estrogénica es alta, inclusive por vía de la ingesta, aumentando su potencial efecto tóxico. Miembros de esta familia son el dietilestilbestrol, el hexoestrol, el dienestrol, que están prohibidos en nuestro país y en el mundo. En los últimos años, han comenzado a difundirse también otros grupos de sustancias con propiedades anabolizantes, pero que entrañan un serio problema para la salud pública. El más conocido es el de los β agonistas. El clenbuterol, el cimaterol, salbutamol, mabuterol integran la extensa lista. Actúan como agonistas de la adrenalina y noradrenalina, uniéndose a sus receptores β . Los adreno-receptores β 1 estimulan la lipólisis y la actividad del músculo cardíaco, y los β 2 producen broncodilatación y vasodilatación por relajamiento del músculo liso. Los β agonistas están permitidos en nuestro país con fines terapéuticos, inclusive para uso en humanos, como

antiasmático y tocolítico.

Pero, para expresar su función anabolizante requieren altas dosis, cuyos residuos representan un peligro para los consumidores de carnes; desde el reporte de serias intoxicaciones se prohibió y sus residuos se controlan estrictamente.

TECNOLOGÍA ANALÍTICA

El análisis de residuos en tejidos animales tiene como característica una matriz altamente compleja. La extracción y la detección de sustancias presentes en concentraciones en el orden de ng/g o ng/ml (1:1.000.000.000), o inclusive menores debe realizarse con alta selectividad. Además, el continuo desarrollo de compuestos o formulaciones nuevas, o nuevas restricciones en el uso de anabólicos, nacional e internacionalmente, nos obliga a la búsqueda continua de nuevos métodos de análisis.

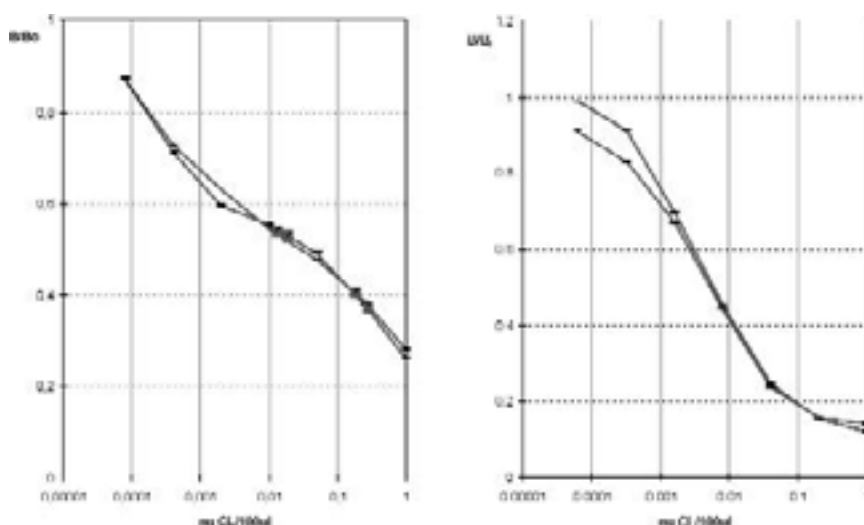
Las metodologías más difundidas son técnicas de cromatografía líquida y cromatografía gaseosa con detección por espectroscopía de masas, o técnicas inmunológicas como ELISA y RIA. Las primeras requieren equipamiento de muy alta complejidad y por lo tanto son técnicas caras. Las técnicas inmunológicas son más accesibles, pero sus características de especificidad, en especial los falsos positivos que producen por reacción cruzada con el anticuerpo, los condicionan como método de monitoreo y no de confirmación.

El Instituto Tecnología de Alimentos del INTA conjuntamente con el Instituto de Biología y Medicina Experimental, dependiente del CONICET, llevaron a cabo un proyecto subsidiado por el Banco Interamericano de Desarrollo (BID) y la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Nación, para el desarrollo de un ELISA para detección de anabólicos. Se derivan de este proyecto enzimoimmunoensayos con distintos diseños, suficientemente sensibles para la detección de residuos. (Fig. 2) Uno de los diseños, fue utilizado en un estudio farmacocinético de clenbuterol en bovinos, utilizando como matriz de análisis el pelo del animal. (Fig. 3)

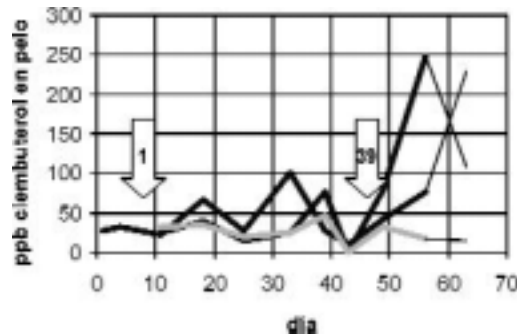
La preparación de la muestra previa al análisis, la extracción y concentración del analito, y la eliminación de interferencias, requiere del desarrollo y puesta a punto de toda una metodología, que es en general exclusiva para una combinación analito-matriz, lo que multiplica la cantidad de desarrollos.

Cuando la droga en estudio posee características que la hacen activa por vía de la ingesta, también es posible encontrarla en la ración alimentaria del animal. En estos casos la concentración es mayor que los residuos y las técnicas de extracción y purificación son más simples. Un simple análisis por cromatografía líquida con un detector poco específico puede alcanzar para detectar su presencia. En estos casos sí es

Figura 2. Curvas de calibración de dos enzimoimmunoensayos. El primer gráfico corresponde a un diseño cuyo rango analítico alcanza a 0,0001 ng en 100ul de volumen de ensayo, y podría extenderse a concentraciones mayores de 1 ng en 100ul. Los puntos en rojo corresponden a dos muestras de corides bovinas adicionadas con 10ng/g y 1 ng/g de clenbuterol, por duplicado. El segundo gráfico pertenece a un diseño con un rango de aplicación más estrecho, donde claramente se ve que en los extremos de la curva la dispersión de la señal es mayor; y por lo tanto el error de medición.



■ Figura 3. Estudio de farmacocinético de clenbuterol en pelo. Dos animales bovinos fueron inyectados con clenbuterol en dosis farmacológica (0.3mg) el día 1 y una dosis 6.5 veces mayor (dosis anaobizante baja) el día 39 del ensayo. Muestras de pelo negro de estos dos animales (curvas oscuras) y de un animal (curva clara) control fueron analizadas por ELISA. (3)



posible realizar multimétodos que determinen la presencia de una sustancia entre varias de un grupo de compuestos.

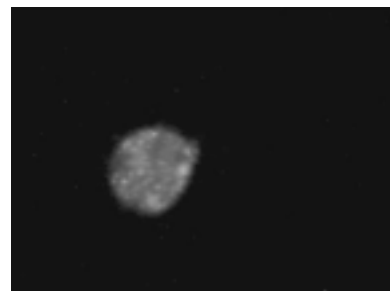
Existe una gran variedad de problemas fisiológicos y factores técnicos que pueden influir en la disposición de la droga en el cuerpo del animal y la formación de metabolitos, y por ende en su detección. Estados fisiológicos como la edad, dieta, el sexo o enfermedades pueden alterar la absorción, disposición y eliminación de las drogas. Más aún, formulaciones farmacéuticas pueden diferir en la biodisposición de los ingredientes activos. Todos estos factores pueden demorar la excreción de la droga y contribuir con la aparición de residuos imprevisibles que excedan los LMR.

La vigilancia de residuos de estos tratamientos en los animales, por análisis directo del compuesto original administrado, puede ser una prueba inadecuada ya que las biotransformaciones producen significativos cambios estructurales en la molécula. La retención de drogas en tejidos animales depende de varios factores, entre ellos, la unión de la droga a estructuras subcelulares y su biotransformación a metabolitos solubles en agua. El hígado y el intestino juegan un papel importante en la biotransformación; por esta razón, para predecir el metabolismo de estas sustancias en un animal, pueden utilizarse cultivos de hepatocitos aislados.

Estos proveen un buen modelo *in vitro*, para estudiar la unión a células, retención y metabolismo de una droga, y sus variaciones por la presencia de otras sustancias en el medio. Actualmente en el INTA, con apoyo de la

International Foundation for Science, se está trabajando en la identificación de los metabolitos del clenbuterol que se forman en un cultivo celular de hepatocitos bovinos aislados. (Fig. 4).

■ Figura 4. Cultivo de hepatocitos bovinos. Imagen de un hepatocito proveniente de un cultivo *in vitro*, marcado un por una reacción fluorescente con clenbuterol. Proyecto de investigación "Biotransformation of β -agonists in bovine hepatocyte culture", subsidiado por *International Foundation for Science*, 2000.



LA SEGURIDAD DEL CONSUMIDOR

La incorporación de regulaciones parece ser un principio adecuado para garantizar la seguridad del consumidor. Pero esta seguridad se aplica sólo a la utilización de productos farmacéuticos registrados, ateniéndose a las precisas indicaciones de uso. Cuando esto no se ha tenido en cuenta, el resultado se puede ver en el reporte de conocidos casos de intoxicaciones en humanos por ingesta de carne. Para nuestro país, como exportador, existe una implicancia adicional. Si se detectan drogas peligrosas en nuestras carnes, países compradores pueden proceder al decomiso, con la consecuente pérdida de confianza de los mercados internacionales. El

INTA ha colaborado estrechamente con el SENASA en proyectos de apoyo técnico y asesoramiento, procurando el efectivo control de residuos de drogas veterinarias.

Los LMR son puntos de partida que impulsan a la investigación en busca de procedimientos que permitan obtener valores correctos, reproducibles y comparables de los residuos. Están basados en el estado del conocimiento actual de las ciencias médicas y en las posibilidades

analíticas. Esto implica una continua actualización.

La confianza de los consumidores no proviene simplemente de los LMR establecidos y los planes de control, sino de la comunicación de los resultados y los avances científicos en la materia, pero cualquier desvío de las buenas prácticas en la producción de alimentos puede hacer que se pierda dicha confianza. ■



<[th`kZ,Z

Van der Wal P, Berende PLM. (1983). "Efecto de los anabólicos en los animales", Anabólicos en producción pecuaria, Simposio OIE, París, pp.75-117.

V. Spotorno, C. Melamed, J. Tezón. (1997). "Amplified enzymeimmunoassay of clenbuterol" 43rd International Congress of meat Science and Technology, Auckland, Nueva Zelanda.

V. G. Spotorno, C. L. Melamed, L. M. Lascano and J. G. Tezón. (1997). "Development of enzymeimmunoassays for the detection of β -adrenergic agonists in meat production", EuroResidue IV Proceedings, pp.1029-1034.

A.A. Stolker, V.G. Spotorno, P.L.W.J. Schwillens, M.H. Blokland, K. Wubs, S. Sterk, L. van Ginkel. (1998) "Different LC methods for the determination of corticosteroids in biological matrices", European Union Community Reference Laboratory EU CRL-NRL Workshop. RIVM / ARO. Bilthoven, Los Países Bajos.

J. Fink-Greemels, A.S.J. PAM. van Miert. 1994. "Veterinary drugs: disposition, biotransformation and risk evaluation" Analyst, vol. 119, pp. 2521-2594.