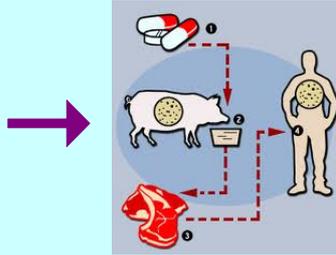


# ESTUDIO DE RESIDUOS DE AMINOGLUCÓSIDOS EN PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL

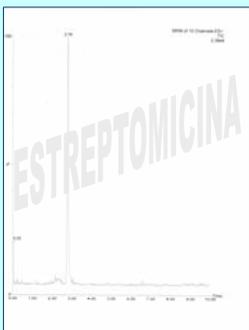
Izu, M; Eguaras, M; Gironés, G; Oscóz, M; Pérez de Ciriza, J.A; Pérez,E ; Sáiz, I  
 Instituto de Salud Pública de Navarra. C/ Leyre 15, 31003 Pamplona, España. Email: isaizmar@cfnavarra.es

## INTRODUCCIÓN

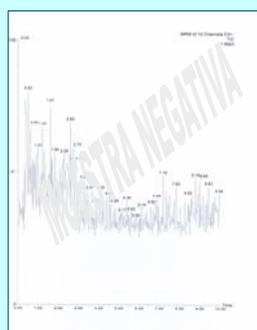
El uso terapéutico de agentes inhibidores puede ser necesario siempre que se administre correctamente. Su uso incontrolado y/o fraudulento, da lugar a la aparición de residuos en los alimentos. Estos residuos se incorporan a la cadena alimenticia con el consiguiente riesgo para la salud de los consumidores. Para evitar esto, es necesario tanto una legislación alimentaria adecuada como su control Analítico. En el Laboratorio del Instituto de Salud Pública de Navarra se ha desarrollado un método para el análisis de aminoglucósidos en alimentos.



## RESULTADOS



Cromatograma de muestra de riñón positiva a Estreptomicina



Cromatograma de muestra de riñón negativa

El número de muestras analizadas y los positivos confirmados según el año, se recogen en estos gráficos. Igualmente, se indican las muestras confirmadas con la sustancia detectada para cada una de ellas.



## MATERIAL

Se utilizaron las muestras procedentes de la zona norte de España, que resultaron positivas en el test microbiológico de criba durante el periodo 2006-2010.

## TÉCNICA

La técnica analítica se basa en una extracción de la muestra con acetonitrilo y una posterior purificación en fase sólida, en el caso de la Neomicina y Gentamicina con cartuchos Oasis MCX 6 cc (500 mg) y en el caso de la Espectinomicina, Estreptomicina y Dihidroestreptomicina con cartuchos ACCELL PLUS 6cc (500 mg).

| MÉTODO CROMATOGRÁFICO |     |    |
|-----------------------|-----|----|
| Tiempo                | %A  | %B |
| 0.0                   | 100 | 0  |
| 0.6                   | 100 | 0  |
| 1.6                   | 10  | 90 |
| 7.0                   | 10  | 90 |
| 7.5                   | 100 | 0  |
| 10.8                  | 100 | 0  |

| Eluyentes                                 |            |             |
|---|------------|-------------|
| A: AcN/Acetato amónico 2 mM/Acido fórmico | 95/5/0.2   |             |
| B: AcN/Acetato amónico 2 mM/Acido fórmico | 5/95/0.2   |             |
| Flujo                                     | Tª columna | Tª muestras |
| 0.5 ml/min                                | 40º C      | 20º C       |

| MÉTODO DE MASAS |            |         |          |          |          |          |
|-----------------|------------|---------|----------|----------|----------|----------|
| Ch              | Frrtt (Da) | Daq(Da) | Dwell(s) | Conte(V) | Coll(eV) | Delay(s) |
| 1               | 333.00     | 122.0   | 0.100    | 45.00    | 35.00    | 0.020    |
| 2               | 333.00     | 189.00  | 0.100    | 45.00    | 35.00    | 0.020    |
| 3               | 478.20     | 157.20  | 0.100    | 26.00    | 35.00    | 0.020    |
| 4               | 478.20     | 322.30  | 0.100    | 40.00    | 21.00    | 0.020    |
| 5               | 582.00     | 263.00  | 0.100    | 45.00    | 20.00    | 0.020    |
| 6               | 582.00     | 407.00  | 0.100    | 45.00    | 35.00    | 0.020    |
| 7               | 584.00     | 263.00  | 0.100    | 45.00    | 35.00    | 0.020    |
| 8               | 584.00     | 409.00  | 0.100    | 45.00    | 35.00    | 0.020    |
| 9               | 615.00     | 293.00  | 0.100    | 38.00    | 21.00    | 0.020    |
| 10              | 616.00     | 163.10  | 0.100    | 38.00    | 30.00    | 0.050    |

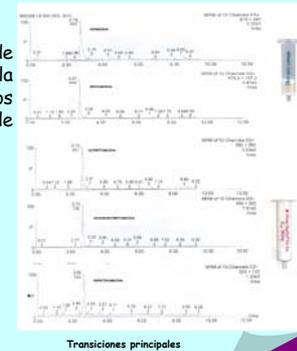
Cromatografo de líquidos Waters acoplado a un detector de espectrometría de masas en tandem (MS/MS) modelo Micromass Quantum Micro con: Sistema de bombeo y de inyección automática 2795 Alliance HT, Detector Waters Micromass QuattroMicro API equipado con Z-Spray, - Software Micromass MassLynx y Columna: HILIC SILICA 3µm 2.1\*50 mm.



## CUANTIFICACIÓN

La cuantificación se realiza mediante recta de regresión en los rangos que se indican en la siguiente tabla. Se pueden ver también los valores de CV (%) obtenidos y los % de recuperación para cada compuesto.

| COMPUESTO (aminoglucósido) | LINEALIDAD (µg/Kg) | PRECISION (%CV) | RECUPERACIÓN (%) |
|----------------------------|--------------------|-----------------|------------------|
| EST                        | 200-500            | 1.5-4.6         | 80               |
| DHE                        | 200-500            | 8-3.6           | 95               |
| ESP                        | 1000-2500          | 10.3-3.7        | 90               |
| NEO                        | 4000-10000         | 6.4-2.7         | 80               |
| GEN                        | 500-1200           | 6.3-5.7         | 85               |



## DISCUSION

Los test de screening microbiológico no representan la incidencia de muestras con residuos, ya que gran parte de ellas no se confirman debido a que estos métodos, no proporcionan información estructural acerca del agente microbiano. Por tanto se necesita una confirmación química. El Laboratorio de Salud Pública de Navarra ha desarrollado un método para la determinación de los 5 aminoglucósidos que más se emplean en el sector veterinario. Se han obtenido valores de LQ situados por debajo los LMR's y con coeficientes de variación adecuados por estar dentro de los intervalos de aceptación dados por la ecuación de Horwitz. A partir del 2008 se observa una disminución en el porcentaje de muestras positivas. Debe considerarse la posibilidad de que se estén utilizando principios activos distintos de los productos citados.

- Determination of Aminoglycosides and Quinolones in Food using Tandem Mass Spectrometry: a Review. Stamatiá I. Kotretsou, PhD. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44-173-174 (2004)
- Determination of streptomycin and dihydrostreptomycin in milk and honey by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Michel van Bruijnsvoort, Stef J.M.Ottink, Klass M. Jonker, Emae de Boer. Journal of chromatography A, 1058 (2004) 137-142
- Determination of Neomycin by LC-tandem mass spectrometry using hydrophilic interaction chromatography. R.Oertel, U.Renner, W.Kirch. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis 35 (2004) 633-638
- Use of liquid chromatography-mass spectrometry in the analysis of residues of antibiotics in meat and milk. D.G.Kennedy, R.J. McCracken, A. Cannavan, S.A. Hewitt. Journal of chromatography A, 812 (1998) 77-98
- Detection of streptomycin and dihydrostreptomycin residues in milk, honey and meat samples using an optical biosensor. J.P.Ferguson, G.A.Baxter,