

DETECCIÓN DE RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS B-LACTÁMICOS EN LECHE MEDIANTE HPLC/MS/MS

Investigadores USAL:

Directora Fernández Suárez, Adriana (adriana.fernandez@usal.edu.ar); Achi, María Verónica

Investigador Externo:

Longhi, Alberto

Resumen

La intensificación de la producción lechera se relaciona con el incremento de las enfermedades del rodeo; las mastitis y las enfermedades podales son las patologías más comunes. En la producción lechera, los antibióticos están entre las drogas más usadas y, entre ellos, los más utilizados son los beta-lactámicos (penicilinas y cefalosporinas). En nuestro país tres cuartas partes de las formulaciones incluyen alguno de ellos. El mal uso o el exceso en su empleo pueden llevar al desarrollo de resistencia bacteriana, con los consecuentes a fallos terapéuticos en el tambo y problemas en la elaboración de derivados lácteos fermentados.

El objetivo del proyecto es desarrollar una técnica por cromatografía líquida de alta eficacia combinada con espectrometría de masa (HPLC/MS/MS) para cuantificar niveles inferiores a los límites máximos de residuos exigidos para los residuos de antibióticos β lactámicos en leche cruda. Dentro de la familia de los beta lactámicos, se determinaron las siguientes penicilinas: G y V, ampicilina, amoxicilina y cloxacilina; y dentro de los cefalosporinas, se determinaron cefalexina y cefapirina.

En el proceso de extracción desarrollado, los compuestos fueron extraídos de la leche con acetoneitrilo y el extracto se purificó posteriormente en una columna fase reversa. Posteriormente se inyectó una alícuota en un cromatógrafo HPLC/MS/MS para la detección de cada uno de los compuestos por doble fragmentación (iones padres e hijos). Los mínimos niveles detectables obtenidos cumplen con los requisitos necesarios pues son menores que los máximos niveles de residuos tolerados.

El método fue validado para la ampicilina con los siguientes resultados: mínimo nivel detectable 0,65 $\mu\text{g/L}$, mínimo nivel cuantificable 1,94 $\mu\text{g/L}$, recuperación promedio 92,1 %, coeficiente de variación CV% 9,2, incertidumbre 18,4 %.

El objetivo siguiente es finalizar con la validación del método y aplicarlo a la totalidad de las muestras recibidas en el Laboratorio Xenobióticos durante 14 meses. Dichas muestras corresponderán a leche cruda de camiones cisterna proveniente de las provincias de Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires, que concentran el 94 % de la producción láctea nacional.

Palabras clave: B lactams; antibióticos; residuos; inocuidad alimentaria

Abstract

The intensification of the dairy production is related to the increase of the diseases of the rodeo, being the mastitis and the podal diseases the most common pathologies. In milk production, antibiotics are some of the most used drugs: ones widely utilized are beta-lactams (penicillin and cephalosporin). In our country, three quarters of the formulations include some of them. The misuse or excess of them can lead to the development of bacterial resistance, leading to therapeutic failures and problems in the elaboration of fermented dairy products.

The aim of the project is to develop a high performance liquid chromatography technique combined with mass spectrometry (HPLC/MS/MS) to quantify levels below the maximum residue limits for β lactam antibiotics in raw milk. Within the β lactam family, the following types of penicillin were determined: G and V, ampicillin, amoxicillin and cloxacillin. And within the cephalosporins, cephalexin and cephalpirin were determined.

In the developed extraction process, the compounds were extracted from the milk with acetonitrile and were further purified on a reverse phase column. An aliquot was then injected into an HPLC / MS / MS chromatograph for the detection of each compound by double fragmentation (parent ions and product ions). The minimum detectable levels obtained meet the necessary requirements being lower than the maximum levels of residues tolerated.

The method was validated for ampicillin with the following results: Minimum detectable level 0.65 $\mu\text{g} / \text{L}$, minimum quantifiable level 1.94 $\mu\text{g} / \text{L}$, average recovery 92.1 %, coefficient of variation CV% 9.2, and uncertainty 18.4 %.

The following aim is to conclude with the validation of the method and apply it to all the samples received in Xenobiotics Laboratory for 14 months. Such samples will correspond to raw milk from tanker trucks coming from the provinces of Córdoba, Santa Fe and Buenos Aires, which concentrate 94 % of the national dairy production.

Keywords: B lactams; antibiotics; residues; food safety