



Concentración y eliminación de florfenicol y enrofloxacin en músculo, piel y hueso de juveniles de Tilapia Nilótica (*Oreochromis niloticus*)

Tissue, skin and bone concentration and elimination of florfenicol and enrofloxacin in Nile Tilapia Juveniles (*Oreochromis niloticus*)

María Alejandra Carranza Dávila¹; Fernando Santiago Galecio Regalado^{1*};
Beatriz Elena Angeles Escobar¹

¹ Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Molina s/n, La Molina, Facultad de Pesquería. Email: mariacadv@hotmail.com; fgalecio@lamolina.edu.pe; bangeles@lamolina.edu.pe

Recepción: 25/10/2018; Aceptación: 05/01/2019

Resumen

Se evaluó la concentración y tiempo de eliminación en músculo, piel y hueso de juveniles de tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) de dos antibióticos de amplio uso en la acuicultura: florfenicol y enrofloxacin. Los juveniles de tilapia con un peso promedio de 40 g fueron medicados vía oral con florfenicol (5 mg/kg de peso vivo) y enrofloxacin (10 mg/kg de peso vivo) durante 15 días consecutivos, evaluando su concentración en músculo, piel y hueso; el día 15 se suspendió la alimentación medicada, alimentándolos por 15 días más con el alimento control y evaluando el tiempo de residualidad de los antibióticos en ese periodo. La máxima concentración en piel, músculo y hueso alcanzada con florfenicol fue de 3,46 µg/g, 6,62 µg/g y 5,44 µg/g, respectivamente, en un tiempo de 10 días para piel y 15 días para músculo y hueso; mientras que la máxima concentración en piel, músculo y hueso alcanzada con enrofloxacin fue de 5,62 µg/g, 5,62 µg/g y 7,18 µg/g, respectivamente, en un tiempo de 10 días para todos los tejidos. No se encontró diferencia significativa entre las concentraciones antes mencionadas de los tejidos de tilapia con relación a los tratamientos con antibióticos. Las concentraciones de los antibióticos en estos tejidos se mantuvieron por encima de las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC), requiriéndose de 7 días para garantizar que los residuos de florfenicol y enrofloxacin fueran menores que los límites máximos permisibles por la Unión Europea y por el Perú ($\leq 0,1$ ppm en los tejidos - EMEA).

Palabras clave: florfenicol; enrofloxacin; concentración; tiempo de eliminación; tilapia.

Abstract

The present study evaluated the concentration and the elimination time in muscle, skin and bone of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* of two antibiotics broadly used in aquaculture: florfenicol and enrofloxacin. The mean weight of tilapia juveniles was 40 g, they received oral medication with florfenicol (5 mg/kg BW/d) and enrofloxacin (10 mg/kg BW/d) for 15 consecutive days, then it was determined the concentration in muscle, skin and bones. After the 15th day the medication was suspended, and started feeding them with control

Forma de citar el artículo: Carranza *et al.*, 2019. Concentración y eliminación de florfenicol y enrofloxacin en músculo, piel y hueso de juveniles de Tilapia Nilótica (*Oreochromis niloticus*). Anales Científicos 80 (1): 160- 167 (2019).

DOI:

Autor de correspondencia (*): Fernando Santiago Galecio Regalado. Email: fgalecio@lamolina.edu.pe
© Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

food for 15 more days, evaluating the elimination time of the antibiotic during that period. The peak drug concentration in skin, muscle and bone with florfenicol was 3,46 µg/g, 6,62 µg/g and 5,44 µg/g respectively in a 10 days period for the skin, while in muscle and bone was 15 days. The peak enrofloxacin concentration on skin, muscle and bone was 5,62 µg/g, 5,62 µg/g and 7,18 µg/g respectively, reaching it in 10 days for every tissue. No significant difference was found between the concentrations mentioned before in the tissues of tilapia among treatments with antibiotics. The drug concentrations in this tissues remained above the minimal inhibitory concentrations (MIC), requiring 7 days of withdrawal time to ensure that the residues of florfenicol and enrofloxacin were less than the maximal residue limit of tolerance established by the European Union and Perú. ($\leq 0,1$ ppm antibiotic present in the tissue, EMEA)

Keywords: florfenicol; enrofloxacin; concentration; elimination time; tilapia.

1. Introducción

En los sistemas de producción animal, como es el caso de la acuicultura, las afecciones parasitarias y bacterianas son consideradas como causa importante de pérdidas de la productividad, debido a daños tales como mortalidad de los peces, reducción de los niveles de producción y productividad, alteraciones reproductivas y altos costos en el control de estas enfermedades (San Martín *et al.*, 2010).

El uso de los antibióticos terapéuticos en los sistemas de cultivo acuáticos surge como una de las alternativas para contrarrestar las enfermedades infecciosas, las cuales pueden ser producidas por un inadecuado manejo técnico (los peces están sometidos a estrés), su alta densidad en un espacio limitado, condiciones ambientales, etc., que permiten el desarrollo de los patógenos (Bermúdez y Espinosa, 2010; Wendover, 2009). Sin embargo, los residuos de medicamentos veterinarios como los antibióticos presentes en los alimentos de origen animal tales como los peces, generan productos de baja calidad y constituyen un riesgo para la salud de los consumidores.

Varias experiencias demuestran que el consumo de estos productos es nocivo para la salud del consumidor respecto a su potencial impacto (Gardner, 1978; Grossklau, 1982; Allison, 1985; Dölz, 1992; Millanao *et al.*, 2011) ya que puede producir toxicidad aguda o crónica, efectos mutagénicos y carcinógenos, desórdenes en el desarrollo corporal, reacciones alérgicas y fenómenos de resistencia bacteriana, entre otros efectos (Doyle, 2006).

Las nuevas tendencias mundiales sobre la seguridad alimentaria han impulsado que países como Japón y Estados Unidos, así como los países europeos, principales importadores de productos acuícolas, establezcan nuevos requerimientos de seguridad como son los límites máximos de residuos (LMR) de antibióticos permitidos para los productos acuícolas que ingresan por sus fronteras. Esto debido a que muchos cultivos acuícolas utilizan antibióticos en alguna etapa del cultivo, sin encontrarse debidamente regulados en los países productores (Montoya y Reyes, 2002; Aguila, 2000).

En el presente estudio se evaluó la acumulación y el tiempo de eliminación de dos antibióticos comerciales (florfenicol y enrofloxacin) en juveniles de tilapia gris, *O. niloticus*.

2. Materiales y métodos

El trabajo experimental se realizó en las instalaciones del Centro de Investigación Piscícola de la Facultad de Pesquería (CINPIS) de la Universidad Nacional Agraria La Molina, ubicado en la Av. La Molina s/n (12°4'57"S 76°56'49"W).

Se emplearon tres estanques de concreto de 3m³ cada uno, divididos en tres, con mallas de 9 mm con marco de madera para las réplicas de cada tratamiento. Se colocaron 81 juveniles de tilapia por tratamiento distribuidos en tres réplicas, correspondiendo a cada uno 27 peces. El material biológico fue tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) con un peso promedio de 40 ± 7,2 gr. Los

tratamientos a evaluar consistieron en probar tres dietas experimentales, basadas en una dieta comercial con 42 % de proteína; para ello, se procedió a preparar una dieta basal de 150 kg, la misma que se dividió en tres partes iguales (50 kg c/u), una de estas tres partes fue destinada como dieta control, a la que no se agregó ningún antibiótico. Posteriormente, se adicionó a cada una de las partes restantes los antibióticos a evaluar (florfenicol y enrofloxacin), en las cantidades que se detallan en la **Tabla 1** y, finalmente, se procedió al peletizado de cada uno de los tratamientos, siendo sometidos a las mismas condiciones de proceso. Una vez terminadas las dietas experimentales, se tomó una muestra del alimento medicado para su posterior análisis de laboratorio, para detectar la concentración del antibiótico en el alimento.

Tabla 1: Concentración, dosis, laboratorio de origen y nombre comercial de los antibióticos enrofloxacin y florfenicol

Antibiótico	Enrofloxacin	Florfenicol
Nombre comercial	Enro-blend	Flor-blend
Laboratorio	Avimex	Avimex
Cantidad agregada por 50 kg (g)	11,9	6,4
Cantidad del antibiótico (mg x kg de alimento)	238	128
Concentración del antibiótico	70%	65%
Concentración (mg antibiótico/kg de alimento)	166,6	83,2
Dosis (mg antibiótico/kg de peso vivo)	10 mg/kg	5 mg/kg

Se alimentó a los peces *ad libitum*. La ración diaria fue distribuida con una frecuencia de tres veces al día (9:00, 12:00 y 3:00 p. m.), en el mismo horario se midieron los parámetros de temperatura en la parte media del tirante de agua de los tres estanques. El oxígeno fue medido con un equipo marca YSI (3 veces por semana, en tres horarios: 09:00, 12:00 y 15:00) y el pH (2 veces por semana, 09:00, 12:00 y 15:00) con un potenciómetro marca Waterproof.

Los muestreos fueron diarios tomando tres individuos elegidos al azar los cuales fueron sacrificados con un corte rápido de la médula espinal. Posteriormente, se retiraron la cabeza, vísceras y cola y se obtuvo de la parte media de cada individuo tres cortes tipo medallones que contenían músculo, piel y hueso, colocándolos individualmente en bolsas selladas e identificadas por tratamiento. Las bolsas fueron colocadas en un envase con hielo hasta su llegada al laboratorio de análisis. Los valores de las concentraciones de antibiótico en las muestras fueron realizados en el laboratorio Bioservice, utilizando el método microbiológico, según [United States Department of Agriculture \(2007\)](#), el cual consistió en realizar pruebas en placas sembradas con esporas de bacterias *Bacillus stearothermophilus* las cuales presentan sensibilidad a los antibióticos empleados. El laboratorio realizó un *pool* con todos los cortes obtenidos, separando la piel, el músculo y el hueso de cada corte, de modo que se pudiera obtener los datos por separado.

Durante esta fase, se procedió a alimentar a los peces con las dietas medicadas, de modo que se pudiera evaluar la acumulación de los medicamentos suministrados a través de los muestreos, lo cuales fueron tomados los días 0, 1, 5, 10 y 15.

Este análisis permitió determinar en qué momento se alcanzó la mayor concentración de antibiótico en el cuerpo y cuánto del medicamento suministrado se acumuló en piel, músculo y hueso de los organismos tratados.

Una vez concluida la primera fase experimental, se suspendió la entrega de las dietas medicadas y se procedió a continuar con la misma estrategia de alimentación, utilizando un alimento comercial de 42% de proteína. Para determinar el tiempo de residualidad del antibiótico, se tomaron muestras de piel y músculo y otras muestras de huesos en los días 16, 23 y 30.

Se utilizó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) para tres tratamientos, con cinco bloques para la primera fase, y para tres tratamientos, con tres bloques para la segunda fase, ambas con 3 repeticiones y 27 peces por repetición. Se empleó el programa informático SAS (Sistema de análisis estadístico) mediante el

cual los datos fueron sometidos al análisis de variancia (ANVA) y la comparación de las medias de los tratamientos se hizo utilizando la prueba de comparaciones múltiples de Tukey a un nivel de $\alpha = 0,05$ (Calzada, 1987).

3. Resultados y discusión

Durante la etapa experimental, la temperatura promedio diaria del agua osciló entre 24 °C y 28 °C. Mientras que el oxígeno disuelto promedio fue de $7,86 \pm 2,3$. Finalmente, los valores de pH registrados en el experimento presentaron un grado neutro a ligeramente alcalino con valores promedios de 7,7 a 8,1. Los peces fueron alimentados *ad libitum* con tasas de consumo de 1,6 – 1,8 g/ día. La concentración de florfenicol hallada en la dieta fue de 0,118 mg/g, en tanto la dieta con enrofloxacin presentó un valor de 0,101 mg/g (Tabla 2). Las dosis administradas variaron de 85% al 91% de la dosis objetiva (5 mg florfenicol/kg y 10 mg enrofloxacin/kg), durante los 15 días que duró la primera fase del experimento.

Tabla 2: Resultado del consumo y las concentraciones de las muestras tomadas de los alimentos medicados

Antibiótico evaluado	Consumo Alimento/ pez/ día	Concentración (mg) antibiótico por gramo de alimento
Florfenicol	1,6 – 1,8 g	0,118
Enrofloxacin	1,6 – 1,8 g	0,101
Control	1,6 – 1,8 g	0,000

En la Figura 1 se observa el comportamiento de las concentraciones del florfenicol alcanzadas durante el tiempo de medicación, encontrando que las concentraciones máximas que se alcanzaron en la piel, músculo y hueso de juveniles de tilapia fueron de 3,46 µg/g, 6,62 µg/g y 5,44 µg/g, respectivamente. Dichas concentraciones se alcanzaron a los 10 días después de iniciado el tratamiento con florfenicol para piel y 15 días para el músculo y hueso, con una temperatura promedio en el agua de 26 °C.

Para el caso del tratamiento evaluado con el antibiótico enrofloxacin, cuyos

resultados se muestran en la Figura 2, se observa que las concentraciones máximas alcanzadas en la piel, músculo y hueso de las tilapias fueron de 5,62 µg/g, 5,62 µg/g y 7,18 µg/g, respectivamente, siendo el tiempo en que alcanzaron la máxima concentración a los 10 días de iniciada la administración del alimento medicado, 5 días antes de terminar el tiempo de medicación.

De la comparación entre las concentraciones de los antibióticos para piel, músculo y hueso que se presentan en la Figura 3, se observa que los valores de concentración de enrofloxacin superan a las de florfenicol en los tres tejidos, debido a la dosis entregadas, sin embargo no se encontró diferencia significativa entre las concentraciones de piel, músculo y hueso entre los tratamientos con antibióticos, pero sí con el tratamiento control para la primera fase del experimento.

Las concentraciones del antibiótico florfenicol, después de 24 horas de finalizada la administración de la dieta medicada, presentan valores en piel, músculo y hueso de 1,49 µg/g, 1,09 µg/g y 3,86 µg/g, respectivamente, siendo estas concentraciones superiores a los límites máximos permisibles (LMP) establecidos por la European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA).

Como se observa en la Figura 2, el día 16 las concentraciones de florfenicol alcanzadas en piel, músculo y hueso fueron eliminadas en un 57%, 83% y 30%, respectivamente. Esto es, 24 horas después de retirada la alimentación con los antibióticos, se aprecia un rápido descenso de las concentraciones máximas alcanzadas del florfenicol, siendo la concentración en el músculo la que se elimina más rápido, mientras que la eliminación en hueso fue la más lenta.

Para el caso del tratamiento con enrofloxacin, las concentraciones de este antibiótico después de 24 horas de finalizada la administración de la dieta medicada presentan valores en piel, músculo y hueso de 3,12 µg/g, 4,37 µg/g y 2,81 µg/g, respectivamente, siendo la concentración en músculo superior al LMP establecido por la EMA para la enrofloxacin, que es de 0,1 µg/gr en músculo, mientras que los LMP para piel y hueso no se encuentran especificados.

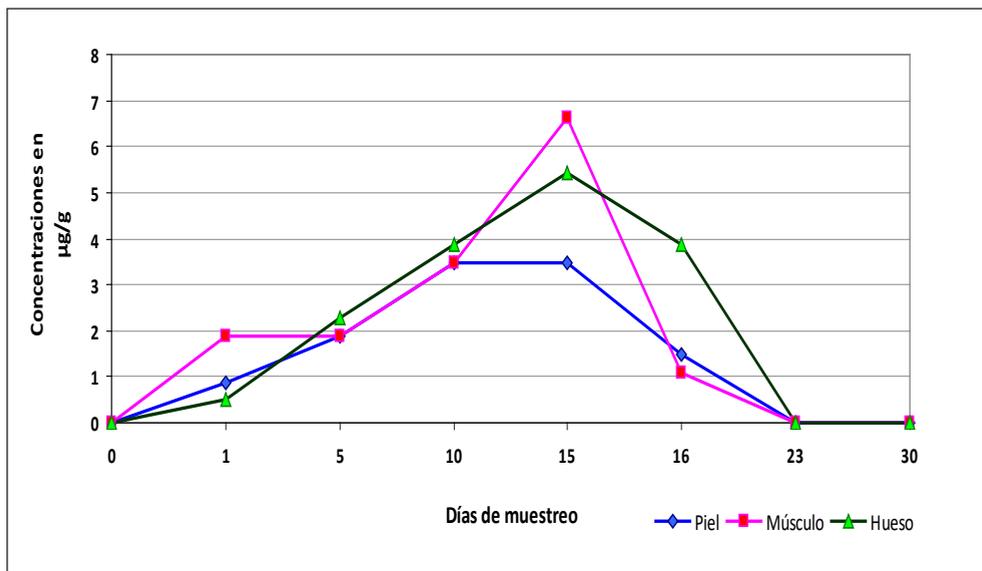


Figura 1: Concentración del florfenicol en la piel, músculo y hueso de tilapia (*Oreochromis niloticus*) administrado vía oral por un periodo de 15 días a una concentración de 5mg/kg de alimento

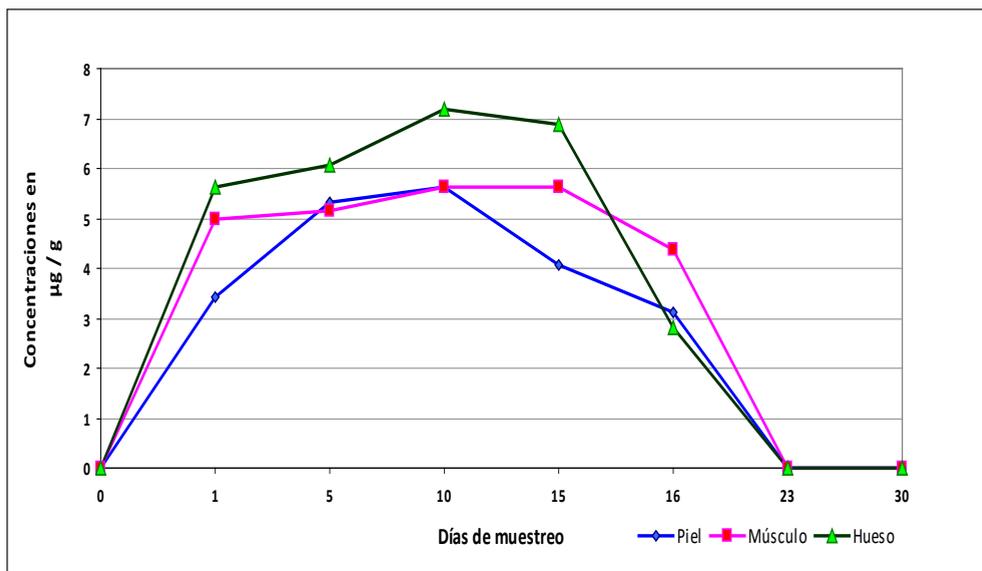


Figura 2: Concentración de la enrofloxacin en la piel, músculo y hueso de tilapia (*Oreochromis niloticus*) administrado vía oral por un periodo de 15 días a una concentración de 10 mg/kg de alimento

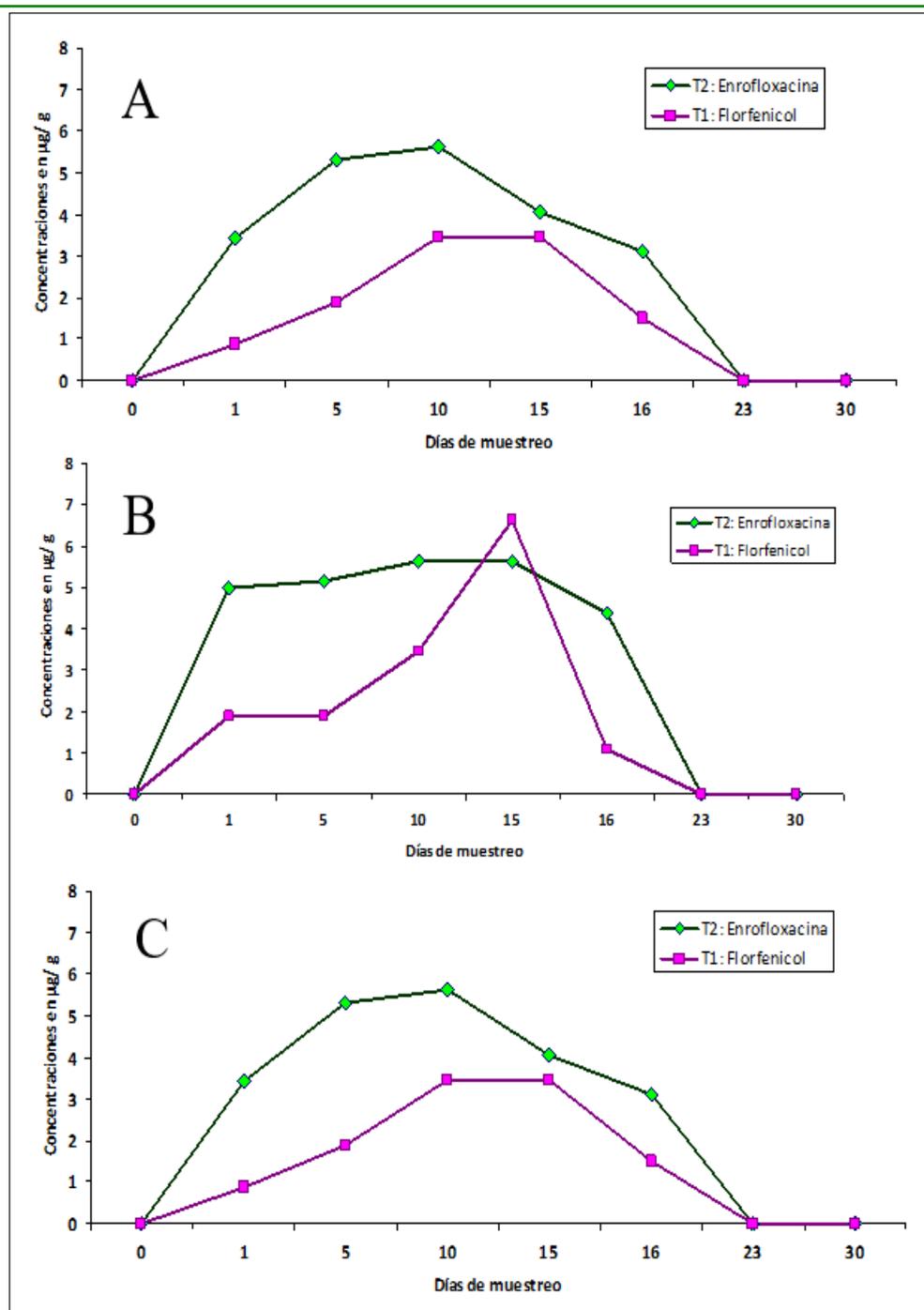


Figura 3: Concentración de los antibióticos enrofloxacina (5mg/kg de alimento) y florfenicol (10mg/kg de alimento) administrados vía oral a tilapias (*O. niloticus*) por un periodo de 15 días en piel (A), músculo (B) y huesos (C)

Las concentraciones alcanzadas en piel, músculo y hueso con el antibiótico enrofloxacin, disminuyeron en un 23%, 22% y 59%, respectivamente, 24 horas después de retirada la alimentación con el antibiótico. Según lo observado, la eliminación de esta sustancia en hueso fue más rápida que con el florfenicol donde las concentraciones de antibiótico en hueso fueron eliminadas más lentamente (30%), caso contrario se presentó para la piel y el músculo siendo su eliminación más lenta que con el florfenicol (piel 57% y músculo 83%).

De la [Figura 3](#), se observa que las concentraciones alcanzadas con enrofloxacin, al igual que con el tratamiento de florfenicol, el tiempo de residualidad y/o eliminación fue entre 2 a 7 días después de suspender el suministro de alimento medicado, encontrando concentraciones musculares del antibiótico por debajo de 0,1 ppm, nivel tolerado por la EMEA y Sanipes para muestras de tilapia cultivada y tratada con enrofloxacin.

No se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones promedio del periodo de retiro entre los tratamientos evaluados, ni tampoco con el tratamiento control, siendo el tiempo de residualidad y/o eliminación para los tratamientos con florfenicol y enrofloxacin de 7 días.

Las concentraciones alcanzadas con los antibióticos florfenicol y enrofloxacin, superan a las CMI de la mayoría de bacterias como *Streptococcus*, *Rickettsias vibrio*, *Pseudomonas* y *Aeromonas*, pudiendo considerarse a estas concentraciones seguras para un adecuado tratamiento ([Águila, 2000](#)). Esto indicaría que ambos antibióticos pueden ser efectivos contra las enfermedades causadas por las bacterias antes mencionadas, excepto *Streptococcus* para el caso de enrofloxacin y *Rickettsias* para el caso de florfenicol. Las dosis aplicadas de florfenicol de 5 mg/kg de peso vivo por un tiempo de al menos 15 días y a una dosis de 10 mg/kg de peso vivo por un periodo de 10 días para el caso de enrofloxacin, lo cual permitiría que ambos antibióticos por separado alcancen las concentraciones máximas ya sea en la piel, músculo y hueso del pez, inhibiendo la acción bacteriana.

El uso de antibióticos de amplio espectro como el florfenicol o la enrofloxacin debe aplicarse ante la presencia comprobada de un determinado patógeno, en las dosis recomendadas anteriormente. Posteriormente, se debe tener un tiempo de eliminación que asegure su inocuidad, en este caso lo recomendado para ambos antibióticos es de al menos siete días con una temperatura del agua de 26 °C, según [Bravo y Millanao \(2010\)](#), el periodo de excreción del fármaco en el pez es dependiente de la temperatura del agua.

4. Conclusiones

Las concentraciones alcanzadas en juveniles de tilapia en 15 días de alimentación medicada con una dosis de 5 mg de florfenicol/kg de peso vivo, fueron de 3,46 µg/g en piel, 6,62 µg/g en músculo y 5,44 µg/g en hueso.

Los valores de las concentraciones alcanzadas en juveniles de tilapia en 15 días de alimentación medicada con una dosis de 10 mg de enrofloxacin/kg de peso vivo, fueron de 5,62 µg/g en piel, 5,62 µg/g en músculo y 7,18 µg/g en hueso.

No se encontraron diferencias significativas entre los valores hallados en piel, músculo y hueso para los tratamientos con antibióticos florfenicol y enrofloxacin, pero sí con el tratamiento control.

A los siete días de retirar el alimento medicado con florfenicol y enrofloxacin no se encontraron diferencias significativas con el tratamiento control de juveniles de tilapia. Dichos valores son considerados seguros para el consumo humano ($\leq 0,1$ ppm según EMEA).

5. Literatura citada

- Allison, J. 1985. Antibiotic residues in milk. *J. Br. Vet* 141(1): 9-16.
- Águila, C.M. 2000. Aplicación de una prueba microbiológica de detección de residuos de antibióticos en peces usando suero sanguíneo y músculo. Tesis de grado en Licenciado en medicina veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- Bermúdez, M.; Espinosa, A. 2010. Empleo de antibióticos en la acuicultura: un

- panorama general de las repercusiones ambientales y económicas. Revista Mundo acuícola y pesquero. Año 7(43).
- Bravo, S.; Millanao, A. 2010. Uso responsable de antimicrobianos en la acuicultura. Revista Mundo acuícola y pesquero. Año 10 (70).
- Calzada Benza, J. 1987. Métodos estadísticos para la investigación. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Dözl, H. 1992. Consideraciones sobre el empleo de la quimioterapia antibacteriana en salmónica. Actualidad Farmacéutica 49(2): 7-9.
- Doyle, M.E. 2006. Veterinary drug residues in processed meats - potential health risk. Food Research Institute (FRI Briefings).
- Gardner, P. 1978. Antibiotics in animals feed: the need for better epidemiologic studies. Journal of infectious Diseases 138: 101-104.
- Grossklaus, D. 1982. Inspección sanitaria de la carne de ave. Acribia, Zaragoza.
- Millanao, A.; Barrientos, M.; Gómez, C.; Tomova, A.; Buschman, A.; Dözl, H.; Cabello, F. 2011. Uso inadecuado y excesivo de antibióticos: Salud pública y salmónica en Chile. Rev. Med. Chile 139: 107-118.
- Montoya., N.; Reyes, E. 2002. Acumulación/eliminación de oxitetraciclina en el camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, y su residualidad en dietas artificiales. Tesis de pre-grado. Universidad Politécnica del Litoral, Facultad de Ciencias Marinas, Ecuador. 65 p.
- San Martín, B.; Tadaishi, R.; Gallardo, A.; Medina, P. 2010. Manual de buenas prácticas en el uso de antibióticos y antiparasitarios en la salmónica chilena. Laboratorio de Farmacología Veterinaria. Facultad de Ciencias.
- Wendover, N. 2009. Manejo de la salud de la tilapia en sistemas comerciales complejos. Intervet/Shering-Plough Animal Health, Singapur.