



Estudio preliminar de residuos de ivermectina en hígado de bovinos en la Sabana de Bogotá



Carmen Teresa Celis-Giraldo ^{a*}

Diego Ordóñez ^a

Leonardo Roa ^a

Sergio Andrei Cuervo-Escobar ^b

Dajane Garzón-Rodríguez ^a,

Milena Alarcón-Caballero ^a

Luisa Fernanda Merchán ^a

^a Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Bogotá, Colombia.

^b Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia.

*Autor de correspondencia: ccelis@udca.edu.co

Resumen:

El objetivo fue determinar la presencia de residuos de ivermectina en hígado de bovinos utilizando la técnica de ELISA competitiva, y correlacionar las variables sexo y edad con la presencia de residuos. A su vez se describen los hallazgos histopatológicos en las muestras analizadas. Se muestrearon 90 hígados de bovinos, seleccionados aleatoriamente en una planta de beneficio en la Sabana de Bogotá. Se analizaron con la técnica de ELISA competitiva y se realizó estudio histopatológico con la técnica de H&E. Se detectó presencia de residuos de ivermectina en el 22 % (20/90) de las muestras analizadas. La mayoría de los individuos provenían de Cogua 35 % (7/20), Zipaquirá 30 % (6/20) y Sopó 20 % (4/20). Las razas fueron Mestizo 35 % (7/20), Cebú 25 % (5/20), Normando 20 % (4/20) y Jersey x Holstein 15 % (3/20). El 85 % (17/20) de los individuos fueron mayores a 1.5 años. En cuanto a la variable sexo, la mayoría de los animales fueron machos 65 % (13/20). El 3 % de los animales evaluados (3/90) excedió el límite máximo

de residuos (>100 ppb). No se encontró asociación entre la presencia de residuos y las variables sexo y edad ($P>0,05$). La mayoría de los cambios histopatológicos fueron leves o moderados, sobresaliendo principalmente las alteraciones en arquitectura y cambios inflamatorios. Se encontró asociación entre la presencia de residuos y las variables alteración microcirculatoria, alteración inflamatoria y cambios similares a muerte celular ($P<0,05$). Como conclusión, la técnica de ELISA competitiva sirvió como método de tamizaje para detectar residuos de ivermectina en las muestras analizadas.

Palabras clave: Antiparasitarios, Ivermectina, ELISA, Hígado, Lactonas macrocíclicas, Bovino.

Recibido: 17/07/2018

Aceptado: 03/04/2019

Introducción

Las enfermedades parasitarias son una de las principales causas de pérdidas económicas para la industria ganadera en los sistemas de producción tropical y subtropical. Estas enfermedades tienen un impacto enormemente prevalente relacionado con factores de la cadena epidemiológica tales como la presencia de vectores y los cambios ambientales⁽¹⁾. La ivermectina es una lactona macrocíclica popular desde su introducción en el mercado^(2,3). Este fármaco es una mezcla de dos homólogos, en una proporción de 80 % de 22,23-dihidroavermectina B1a (H_2B_{1A}) y no más de 20 % de 22,23-dihidroavermectina B1b (H_2B_{1b})⁽⁴⁾. En la comunidad europea se han determinado límites máximos de residuos (LMR) para el uso de la porción de B1A como indicador⁽⁵⁾. Su destacado uso en la medicina veterinaria se deriva de la actividad espectral para el control de los nematodos y artrópodos, lo cual genera un marcado interés en el desarrollo de la investigación. Además, también se ha utilizado el grupo de las lactonas macrocíclicas en la agricultura para el control de plagas, y en la medicina humana, sobre todo para el tratamiento de la oncocercosis^(6,7).

Desde el punto de vista farmacocinético, los estudios han demostrado que el principal órgano en el que se detectan los residuos de la ivermectina es el hígado en casi todas las especies evaluadas^(8,9,10). Por ello, debido a su excesivo uso en el campo, al consumo de vísceras y a su posible toxicidad, este órgano fue elegido como matriz para realizar este estudio. Se han desarrollado diversas metodologías para detectar los residuos, entre las cuales la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, en inglés) y la espectrometría de masas son las más recomendadas por su elevada sensibilidad y selectividad; sin embargo, también presentan ciertas desventajas, por ejemplo: el proceso de extracción es complejo y se requiere de un equipo costoso⁽¹¹⁾. Otras metodologías semi-cuantitativas tales como la prueba competitiva ELISA se utilizan como método de detección en

diversas matrices. Algunas ventajas son su bajo costo, su rapidez con una sensibilidad y especificidad relativamente buenas en comparación con la HPLC^(4,12).

El propósito de esta investigación fue determinar la presencia de residuos de ivermectina en hígados bovinos de la Sabana de Bogotá, D.C., utilizando la técnica de ELISA competitiva y correlacionando la presencia de residuos con las variables género y edad. Además, este estudio describe los cambios hisopatológicos en las muestras evaluadas.

Material y métodos

Área de estudio

Se obtuvieron muestras del rastro de Zipaquirá, en el cual se sacrifica un total de 200 animales al día. Este rastro está clasificado como de tipo II, según el INVIMA (Decreto 1036 de 1991) y la Secretaría de Salud, y está certificado por las normas ISO 9001: 2008 y NTCGP1000: 2009.

Tamaño de la muestra

Considerando un error del 10 % y un nivel de confianza de 99 %, se analizaron 89 hígados. Los animales fueron seleccionados al azar en el área de suspensión y posteriormente fueron identificados. Una vez en el área de evisceración, se recolectaron 100 g de hígado en bolsas estériles para aplicarles la prueba ELISA. Cada muestra fue marcada, debidamente etiquetada, refrigerada, transportada y posteriormente almacenada a -20 °C hasta el momento de realizar el análisis. Al mismo tiempo, se obtuvieron datos del origen, raza, género y edad de los animales evaluados.

En la fase de estandarización, se incluyó el hígado de un bovino como testigo negativo. Este animal no recibió ningún tratamiento previo con ivermectina. Previa autorización del Comité de Bioética de la U.D.C.A., se practicó la eutanasia a un becerro de 8 días de edad, utilizando Euthanex® (60 mg/kg, I.V) y se tomaron muestras de su hígado para fines de análisis. La vaca preñada pertenecía a la universidad y no recibió tratamiento antiparasitario con lactonas macrocíclicas durante la preñez.

Procedimiento

Se utilizó la prueba de ELISA competitiva para detectar y cuantificar los residuos. Estas pruebas utilizan anticuerpos policlonales de conejo contra la ivermectina, y el proceso de análisis de cada muestra se llevó a cabo tomando en cuenta la información del proveedor del kit⁽¹³⁾; la cantidad de ingrediente activo en las muestras fue expresado brevemente como equivalentes de ivermectina (ng/ml). En el caso del hígado, los valores que se

obtuvieron de la curva de calibración se multiplicaron por un factor de 5 para expresar la concentración en ng/g. Los equivalentes de ivermectina correspondieron al porcentaje máximo de absorbencia de cada extracto leído de la curva de calibración de los siete estándares (Cuadro 1). Se tomaron en cuenta los coeficientes de determinación obtenidos en cada curva de calibración para calcular la concentración de residuos específicos.

Cuadro 1: Concentración de ivermectina en las soluciones estándar

Estándar	0	1	2	3	4	5	6
ng/ml	--	1.25	2.5	5	10	25	50

Cada muestra fue descongelada y homogeneizada con un procesador de alimentos. El material así obtenido fue sometido a un proceso de extracción y por ende a la cuantificación de residuos basada en los parámetros del proveedor del kit. Las muestras se consideraron residualmente positivas cuando excedieron el límite de detección (LDD) reportado del kit de 8 ppb. El límite máximo de residuos (LMR) para el hígado fue de 100 ppb, considerando así los valores reportados en la Resolución 1,382 de 2013 de la Secretaría de Salud y Protección Social. Las muestras se analizaron por duplicado en el laboratorio de microbiología de la U.D.C.A.

Análisis histopatológico

Además de la muestra tomada para el análisis ELISA, se obtuvieron 5 g de hígado para la evaluación histopatológica, conservándolos en formaldehído al 10 %. Se procesaron las muestras mediante la técnica de hematoxilina y eosina en el laboratorio de patología de la U.D.C.A. Se evaluaron tres zonas del lóbulo hepático como sigue: la zona 1 se localiza a una distancia mayor de la vena centrilobular, específicamente en la periferia del lóbulo; la zona 2 correspondió a la mitad de la periferia y la vena centrilobular, y la zona 3 es la más cercana a la vena centrilobular.

En las áreas arriba mencionadas se evaluaron las siguientes variables:

Alteraciones en la arquitectura: vacuolación, inversión lobular, hiperplasia canalicular y fibrosis parenquimal.

Alteraciones microcirculatorias: en este caso, se tomaron en cuenta la congestión centrilobular, la congestión generalizada, la hemorragia focal y el edema.

Alteraciones inflamatorias: presencia de células polimorfonucleares, mononucleares y mixtas. Se realizó una evaluación de las áreas lobulares.

Cambios similares a la muerte celular: se consideraron la apoptosis y la necrosis.

Para cada una de las variables, el grado de la lesión se clasificó como sigue: (0) aparentemente normal, (1) leve, (2) moderada y (3) severa⁽¹⁴⁾.

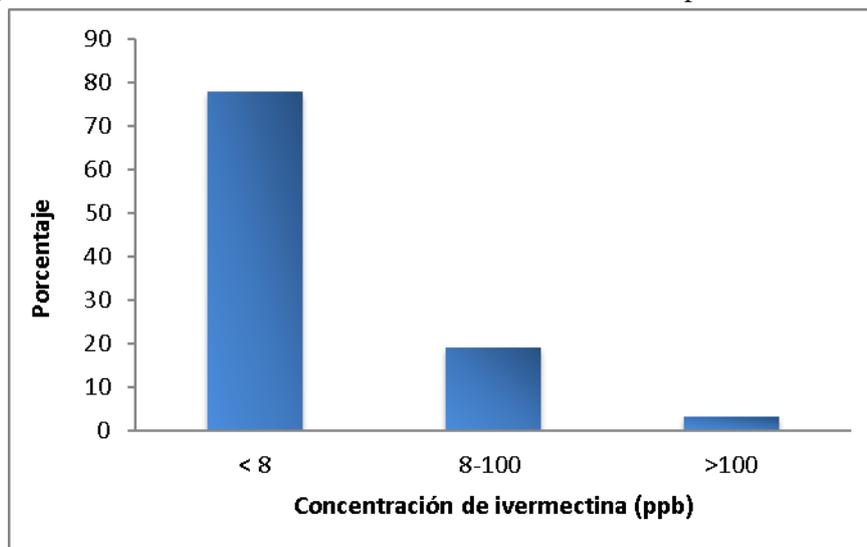
Análisis estadístico

Este estudio fue observacional, con un muestreo aleatorio simple. Los datos se registraron en una hoja de cálculo de Excel 2016, de Microsoft Office, y se analizaron con el paquete estadístico STATA MP14. Se realizó un análisis descriptivo de las variables origen, raza, género y edad. A fin de analizar el efecto de las variables género, edad e histopatológicas con la concentración de ivermectina, se realizó una prueba de asociación de J_i^2 ($P < 0.05$).

Resultados

Los coeficientes de determinación obtenidos para calcular la concentración de residuos fueron, en promedio, de 97 %. La mayoría de los individuos presentaron niveles de menos de 8 ppb (78 %); el 19 % presentaron entre 8 y 100 ppb, y solamente el 3 % presentaron residuos de más de 100 ppb, los cuales rebasan los LMR (Figura 1).

Figura 1: Distribución de residuos de ivermectina en la población evaluada



La población sin residuos (LDD <8 ppb) se originó principalmente en Zipaquira (44 %, 28/70), seguida de Cogua (26 %, 18/70) y a Sopo y Chiquinquirá, respectivamente, correspondieron el 10 % restante (7/70) de los animales evaluados. Para la variable raza, la proporción más elevada de animales fue la Normanda (34 %, 24/70), seguida de Holstein 28 % (20/70) y Mestiza 23 % (16/70). En cuanto a la variable edad, sólo el 13 % (9/70) fueron animales de menos de 1.5 año de edad, y el 87 % eran mayores de 1.5 año. Para la variable género, se observó que el 59 % (41/70) de los animales muestreados fueron hembras, y el 41 % (21/70) fueron machos.

Los individuos con presencia de residuos se originaron sobre todo en Cogua (35 %, 7/20), Zipaquira (30 %, 6/20), Sopo (20 %, 4/20). Solamente un individuo de La Vega, Bogotá y Guasca, respectivamente, fue positivo. Las razas en las que se encontraron residuos fueron Mestiza (35 %, 7/20), Cebú (25 %, 5/20), Normanda (20 %, 4/20) y Jersey x Holstein (15 %, 3/20); para Holstein se registró solamente un individuo. El 85 % (17/20) de los animales fueron mayores de 1.5 año, y el 15 % restante (3/20) fueron menores de 1.5 año. En lo que se refiere al género, fueron sobre todo machos (65 %, 13/20); el 35 % (7/20) fueron hembras.

Sólo el 3 % (3/90) de las muestras rebasó el LMR). Todos los animales positivos fueron machos; dos muestras provenían de Sopo y una de Cogua, y dos de ellos eran mayores de 1.5 año. Estos animales pertenecían a las razas Mestiza, Holstein y Jersey x Holstein (Cuadro 2). Cuando se realizó la prueba de asociación de Ji^2 no se encontraron asociaciones entre las variables edad ($P=0.84$), género ($P=0.06$) y concentración de ivermectina.

Cuadro 2: Estadísticas descriptivas de la población con presencia de residuos

Variable	Muestras con residuos \ Población total	% Muestras con residuos	Concentración (≥ 8 ppb)			Muestras $>LMR^*$
			Rango	Promedio	EE	
Género:						
Machos	13\42	31	8.40-154.72	58.50	14.71	3
Hembras	7\48	15	8.32-26.92	16.30	2.38	0
Origen:						
Cogua	7\25	28	8.86-154.72	37.86	19.58	1
Sopo	4\11	36	8.32-140.25	86.05	31.92	2
Zipaquira	6\34	18	8.40-87.65	32.75	10.50	0
Edad:						
< 1.5 años	3\12	25	8.86-154.72	60.98	46.96	1
≥ 1.5 años	17\78	22	8.32-140.25	40.68	10.11	2
Raza **						
Mestiza	7\23	30	8.32-136.40	33.74	17.45	1
Cebú	5\12	42	18.28-87.65	34.67	13.32	0
Normanda	6\28	14	8.40-59.22	31.43	8.87	0
Jersey x Holstein	3\4	75	15.12-140.25	61.53	39.56	1

*LMR= Límite Máximo de Residuos.

**Sólo un individuo de la raza Holstein rebasó el LMR con 154.72 ppb.

Para el análisis histopatológico se evaluaron 86 muestras, y como se mencionó antes, 20 hígados presentaron residuos de ivermectina, y 66 hígados fueron considerados negativos. La Tabla 3 registra los datos por severidad de la lesión y según las diversas variables analizadas. Cabe mencionar que en las muestras analizadas no se observaron

inversiones lobulares ni lesiones compatibles con la necrosis. La mayoría de los cambios observados fueron leves en ambos casos. Para las muestras sin residuos, los principales cambios observados correspondieron al nivel inflamatorio, entre los cuales destaca una presencia de monocitos leve (28/66), moderada (6/66) y severa (3/66). También se describieron cambios leves en la vacuolización (41/66), hiperplasia (15/66), hiperplasia moderada (22/66), fibrosis leve (27/66) y fibrosis moderada (21/66). Encontramos asociación entre las variables alteración microcirculatoria, alteración inflamatoria y cambio similar a la muerte celular ($P<0.05$) (Cuadro 3).

Cuadro 3: Hallazgos histopatológicos en la población estudiada

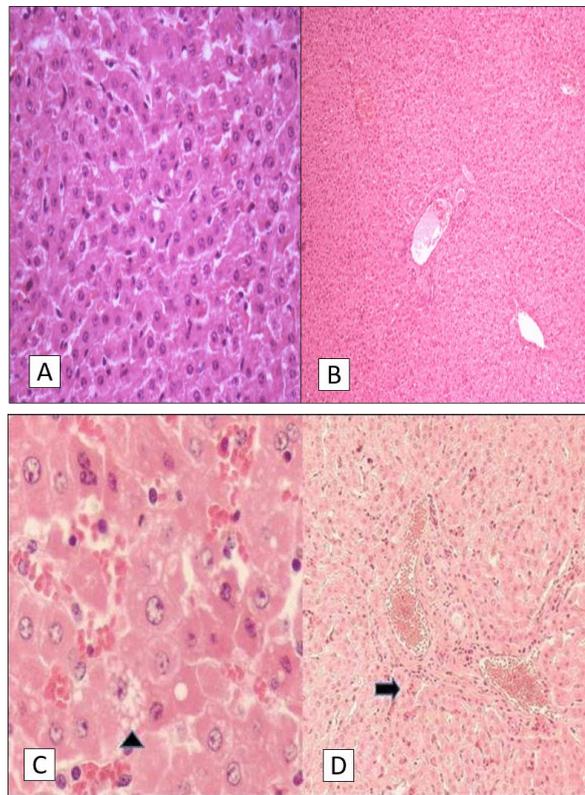
		Grado de severidad	LOD < 8ppb	LOD ≥ 8ppb	Valor p*
Alteración en Arquitectura	Vacuolización	Normal	21	10	0.318
		Leve	41	7	
		Moderado	4	3	
	Hiperplasia	Normal	29	11	0.447
		Leve	15	8	
		Moderado	22	1	
	Fibrosis	Normal	18	6	0.708
		Leve	27	11	
		Moderado	21	2	
Alteración Microcirculatoria	Congestión lobulillar	Severo	0	1	0.000*
		Normal	49	2	
		Leve	17	11	
	Congestión generalizada	Moderado	0	7	0.000*
		Normal	64	7	
		Leve	1	9	
	Hemorragia Focal	Moderado	0	4	0.006*
		Severo	1	0	
		Normal	66	16	
Edema	Leve	0	1	0.006*	
	Moderado	0	3		
	Normal	66	15		
Alteración inflamatoria	Polimorfonucleares	Leve	0	6	0.000*
		Moderado	0	1	
		Normal	66	5	
	Monocitos	Leve	0	13	0.000*
		Moderado	0	2	
		Normal	29	3	
		Leve	28	15	0.027*
		Moderado	6	2	

Similar a muerte celular	Mixto	Severo	3	0	0.000*
		Normal	66	7	
		Leve	0	12	
	Zona 3	Moderado	0	1	0.003*
		Normal	33	17	
		Leve	33	3	
	Apoptosis	Normal	66	12	0.000*
		Leve	0	7	
		Moderado	0	1	

$P < 0.05$.

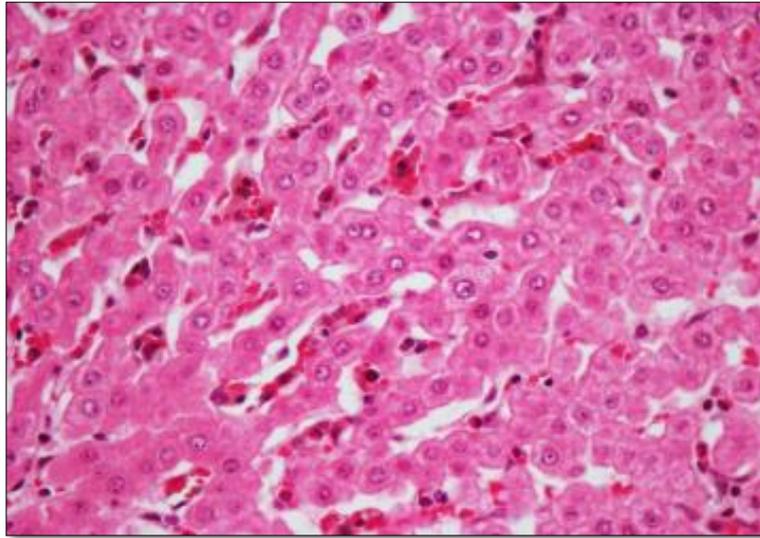
Los animales con evidencia de residuos (20) presentaron alteraciones en las variables arquitectónicas: 10 muestras exhibieron cambios vacuolares (7, leves, y 3, moderados); 9 tuvieron hiperplasia canalicular (8, leve, y 1, moderada), y 14 tuvieron fibrosis portal (11, leve; 2, moderada, y 1, severa) (Figura 2). Dieciocho (18) muestras que contenían residuos de ivermectina presentaron congestión centrilobular (11, leve, y 7 moderada); 13 muestras presentaron congestión generalizada y dilatación sinusoidal (10, leves, y 4, moderadas), y 4 focos hemorrágicos (1, leves, y 3, moderados) (Figura 3).

Figura 2: Hígado bovino sin residuos de ivermectina



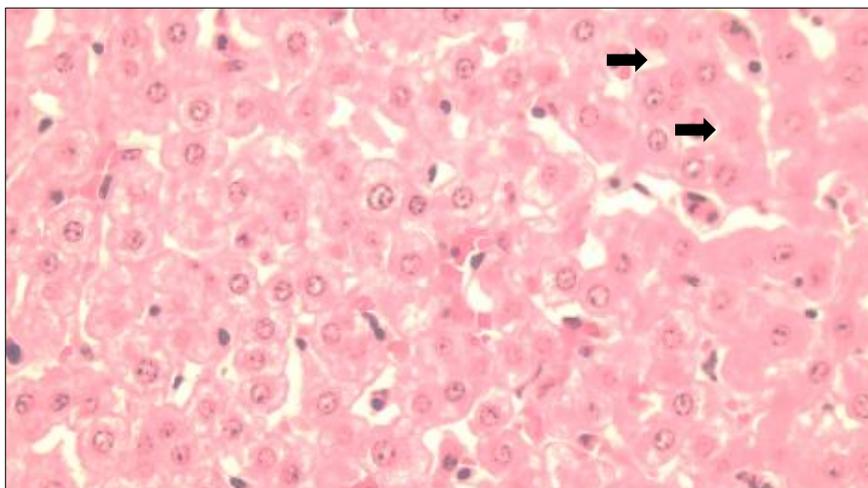
A. Arquitectura normal en los hepatocitos (400X) y **B.** el área portal (100X). Cambios arquitectónicos en el parénquima hepático de ganado con residuos. **C.** Cambios vacuolares, obsérvese la presencia de vacuolas intracitoplásmicas (punta de la flecha) (400x). **D.** Fibrosis leve del área portal (flecha) (100X).

Figura 3: Cambios microcirculatorios en el parénquima hepático de ganado con presencia de residuos de ivermectina. Se evidenciaron congestión leve y dilatación sinusoidal.



En relación con el infiltrado inflamatorio, 13 de los 20 animales presentaron infiltración mixta, predominantemente por células mononucleares (15, leve, y 1, moderada) en distribución centrilobular. En comparación, en ambos grupos se halló una amplia gama de cambios asociados a procesos microcirculatorios, arquitectónicos, inflamatorios y de muerte celular (apoptosis) (Figura 4). Y en cuanto a la última alteración, sólo ocho de las muestras analizadas mostraron alteraciones asociadas con cambio similar a muerte celular, caracterizados por una distribución multifocal en los tejidos con presencia de residuos de ivermectina (Cuadro 3).

Figura 4: Cambios compatibles con la apoptosis, hígado de bovino con residuos de ivermectina obtenido de un rastro. Células con alteraciones relacionadas con muerte celular (flechas)



Discusión

La ivermectina es un compuesto activo que se ha utilizado durante casi 20 años en numerosos países y en diferentes sistemas de producción de animales. Como resultado de su uso, se realizan pruebas de control en productos alimenticios derivados del ganado a fin de armonizar los procesos de comercialización. Se han realizado varios estudios que reportan distintas metodologías para este propósito, tales como la técnica de ELISA competitiva. Este método se desarrolló antes⁽⁴⁾, utilizando antisuero policlonal de conejo y el límite de detección (LDD), fue de 1.6 µg/kg, y los anticuerpos presentaron una reacción cruzada con la doramectina, pero no con la moxidectina. En ese estudio se analizaron muestras de hígados negativos (1.6 ng/g), hígados fortificados con 100 ng/g de ivermectina e hígados tratados tópicamente con 0.5 mg/kg, de animales sacrificados en los días 7, 14, 21 y 28. En este caso, los niveles de ivermectina fueron de 52.7 ng/g en el 7° día después del tratamiento y se redujeron a 4.1 ng/g en el 28° día. Los datos fueron confirmados mediante otra técnica complementaria, como la cromatografía líquida de alto desempeño (en inglés, HPLC). El rango de ambas pruebas fue de 1 a 58 ng/g con una correlación cercana ($r = 0.99$).

En un estudio realizado por otros autores⁽¹²⁾ en el que se desarrolló una prueba ELISA para la detección de múltiples avermectinas (abamectina, eprinomectina e ivermectina), la avermectina modificada 4C-O-succinil avermectina se conjugó con albúmina bovina y ovoalbúmina como inmunógenos para generar anticuerpos policlonales en preparación. El LDD para esta prueba fue de 1.06 ng/ml para las tres avermectinas. El porcentaje de recuperación osciló entre 53.8 % y 80.6 %, y fue similar al de reportes anteriores en los que se utilizó HPLC, lo que hace de esta técnica en un método rápido de tamizaje para detectar avermectinas en los hígados bovinos. En el presente estudio, el LDD de 8 ppb (reportado por el fabricante). 70 muestras se encontraron por debajo del mismo; 17, entre 8 y 100 ppb, y sólo 3 superaron los 100 ppb. Es importante tener en cuenta que en este caso no se realizaron pruebas confirmatorias adicionales; sin embargo, dados los datos obtenidos, sería pertinente extender este tipo de enfoque a otros sistemas de producción con un mayor uso de este compuesto activo, situación que se ha reportado en otras áreas del país.

Volviendo al LMR, sólo el 3 % de las muestras rebasaron el valor máximo reportado por las autoridades colombianas (>100 ppb); este porcentaje puede considerarse como un nivel bajo. En Colombia se llevó a cabo un estudio para determinar la residualidad de los insecticidas organofósforo, carbamatos e ivermectina en la leche cruda de granjas ubicadas en zonas tropicales. De 609 muestras analizadas, 37.44 % contenían niveles de organofosfato por encima del LMR; la mayoría de las muestras positivas fueron encontradas en la Región de Magdalena. Sin embargo, se analizaron 180 muestras de leche para detectar y cuantificar residuos ivermectina, y todas las muestras rebasaron el LMR⁽¹⁵⁾. Los datos obtenidos en este estudio fueron similares a los observados en otros países como México, donde se evaluó la presencia de residuos de ivermectina debido al

uso incrementado de esta molécula en las granjas. En este caso, se tomaron 234 muestras de hígados en el transcurso de un mes y se las analizó mediante HPLC. Sólo una muestra no estuvo dentro de los parámetros (149 µg/kg), situación similar a otra reportada anteriormente por un esquema de control para esta área⁽¹⁶⁾.

Estos datos arriba difieren de otro reportado en el Brasil. Debido a problemas de residualidad durante 2010, se desarrollaron varias técnicas de detección en matrices musculares, permitiendo el establecimiento del LMR, y se tomaron las medidas pertinentes para ejercer el control de los medicamentos dentro de los sistemas de producción⁽¹⁷⁾. Algunas de las estrategias utilizadas correspondieron a campañas educativas para productores a fin de prevenir las enfermedades parasitarias mediante el manejo y el uso de medicamentos, tomando en cuenta varios factores que pueden ocasionar que se rebasen los niveles máximos de residuos, tales como la formulación del producto, las propiedades del ingrediente físicoquímico activo, sobredosis, método de administración, uso del producto en especies no recomendadas, lotes de animales heterogéneos y, por último, el incumplimiento de los tiempos de retiro^(2,11).

Por lo que respecta a las características epidemiológicas, no se observó ninguna asociación entre las variables género y edad y la presencia de residuos. Pese a este hecho, hubo una mayor presencia de residuos en los machos que en las hembras. Tomando en cuenta esto, los datos farmacocinéticos reportados muestran que hay diferencias relacionadas con el género y con la disposición plasmática del ingrediente activo. Estas características han sido estudiadas en diversas especies animales y específicamente en el ganado se han encontrado diferencias relacionadas con el género en función de la concentración en plasma cuando se evaluó la ivermectina y la doramectina; la biodisponibilidad de ambas moléculas fue 10 % más elevada en las novillas que en los cabestros⁽¹⁸⁾. Esta diferencia se asoció a la cantidad de tejido adiposo en los machos y en las hembras, considerando las características del ingrediente activo, tales como la elevada liposolubilidad del agente endectocida que promueve su almacenamiento en este tejido y favorece su persistencia⁽⁹⁾.

Si bien se observaron residuos en las hembras, el porcentaje encontrado fue muy bajo (15 %). Posiblemente los animales evaluados se encontraban en un periodo de no lactancia (seco), lo que llevó a que fueran descartadas y sacrificadas, pero en todo caso superaron los límites, y los datos más relevantes se encontraron en los machos. Aun así, es importante tener en cuenta que la única avermectina aprobada para su uso en granjas lecheras es la eprinomectina y que otros factores, como la influencia de las hormonas, puede afectar el metabolismo del fármaco en lo relativo a su transformación y eliminación^(15,19).

La evaluación histopatológica de este estudio permitió una amplia gama de hallazgos de alteración hepática parenquimal, uniforme en los animales con y sin residuos. Cuando se evaluaron las alteraciones microcirculatorias, algunos animales con residuos presentaron un mayor grado tanto de cambios congestivos como de severidad de focos hemorrágicos,

lo que sugiere una mayor susceptibilidad de desarrollar trastornos asociados con alteraciones de la red vascular del parénquima hepático; sin embargo, el número de animales que desarrollaron este tipo de trastornos no resulta ser significativo.

Numerosas sustancias químicas sufren parte de su biotransformación en el tejido hepático; esto también significa que una parte considerable de estos compuestos podrían generar alteraciones celulares del parénquima y causar así posibles trastornos asociados a alteraciones de funciones hepáticas como la síntesis de proteínas, la transformación de los carbohidratos y el metabolismo de los lípidos. Entre las sustancias que el hígado procesa se encuentran los fármacos, las toxinas bacterianas y las plantas tóxicas. En este sentido, no se puede descartar el efecto, único o concomitante, de este tipo de compuestos en las muestras analizadas.

Un estudio realizado en ratas para evaluar el efecto de tratamientos masivos y prolongados con ivermectina y otras moléculas contra diversos parásitos demostró algunas alteraciones clínicas compatibles con la hepatotoxicidad, y los cambios anatomopatológicos revelaron distorsión arquitectónica, necrosis hepatocelular e hiperplasia celular de Kupffer⁽²⁰⁾. En los casos hiperagudos de intoxicación en cabras, se reporta muerte repentina sin alteraciones patológicas sistémicas⁽²¹⁾. En los seres humanos, un reporte de caso demostró el potencial hepatotóxico de la ivermectina después de su administración a un paciente con filariasis, puesto que se detectó infiltrado inflamatorio intralobular y acumulación de pigmento ceroides, así como necrosis perivenular, necrosis y apoptosis⁽²²⁾. Según las directrices internacionales, la ingesta diaria aceptable establecida para los seres humanos es de 10 µg/kg (600 µg/persona/d)⁽⁵⁾; estos niveles no fueron observados en las muestras analizadas. Cabe señalar que, al igual que estos reportes, el presente estudio evidenció cambios similares a la apoptosis exclusivamente en animales con presencia de residuos; sin embargo, sería necesario efectuar otros estudios, por ejemplo, una inmunohistoquímica, a fin de clarificar la asociación entre los residuos y el desarrollo de lesiones hepáticas.

Se ha asociado el envenenamiento con ivermectina con la sobredosis o con la presencia de una mutación de P-glicoproteína que promueve el desarrollo de síntomas neurológicos en varias especies animales. Se ha asociado la intoxicación humana con efectos leves a moderados de una reacción de Mazzotti y de una encefalopatía ligadas a un tratamiento microfilaricida o a la exposición a lactonas macrocíclicas⁽²³⁾.

Conclusiones e implicaciones

En conclusión, la prueba de ELISA comparativa utilizada en este estudio sirvió como método de tamizaje para analizar los residuos de ivermectina en hígados bovinos. Sólo un 3 % de las muestras rebasó el LMR, y no se halló correlación entre la presencia de residuos y las variables género y edad ($P>0.05$). La mayoría de los cambios histopatológicos fueron leves o moderados, entre los cuales destacan las alteraciones en

la arquitectura y los cambios inflamatorios. Existe una asociación estadística entre la presencia de residuos de ivermectina y las variables alteración microcirculatoria, alteración inflamatoria y cambios similares a la muerte celular ($P<0.05$).

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al rastro de Zipaquira y a la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A.) por todo su apoyo en la ejecución de este proyecto, así como a la compañía Basic Farm® por la orientación proporcionada. Agradecen también al Profesor Juan de Jesús Vargas por su apoyo en el análisis estadístico.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses en la presentación de este documento.

Literatura citada:

1. Singh NK, Singh H, Jyoti, Haque M, Rath SS. Prevalence of parasitic infections in cattle of Ludhiana distric, Punjab. *J Parasit Dis* 2012;36(2):256-259.
2. Danaher M, Radeck W, Kolar L, Keegan J, Cerkenik-Flajs V. Recent developments in the analysis of avermectin and milbemycin residues in food safety and the environment. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13:936-951.
3. Ômura S. Ivermectin:25 years and still going strong. *Inter J Anti Agen* 2008;31:91-98.
4. Crooks SRH, Baxter AG, Traynor IM, Elliot C, McCaughey WJ. Detection of ivermectin residues in bovine liver using an enzyme immunoassay. *Analyst* 1998;123:355-358.
5. EMEA. Ivermectin (All mammalian food producing species). Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. European Medicines Agency. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2014/05/WC500167329.pdf. Accessed May 15, 2018.
6. Wolstenholme AJ, Rogers AT. Glutamate-gated chloride channels and the mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics. *J Parasitol* 2005;131:S85-S95.
7. Ômura S, Crump A. Ivermectin: panacea for resource-poor communities? *CellPress. Trends Parasitol* 2014;30(9):445-455.
8. Escribano M, San Andrés MI, de Lucas JJ, González-Canga A. Ivermectin residue depletion in Food producing species and its presence in animal foodstuffs with a view to human safety. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13:987-998.

9. McKellar QA, Gokbulut C. Pharmacokinetic features of the antiparasitic macrocyclic lactones. *Curr Pharm Biotechno* 2012;13:888-911.
10. Lee Chiu S-H, Buhs R, Sestokas E, Taub R, Jacob T. Determination of ivermectin residue in animal tissues by High-Performance Liquid Chromatography-Reverse isotope dilution assay. *J Agr Food Chem* 1985;33:99-102.
11. Danaher M, Howells LC, Crooks SRH, Cerkvenik-Flajs V, O’Keeffe M. Review of methodology for the determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices. *J Chromato B* 2006;844:175-203.
12. Shi W, He J, Jiang H, Hou X, Yang J, Shen J. Determination of multiresidue of avermectins in bovine liver by an indirect competitive ELISA. *J Agr Food Chem* 2006;54:6143-6146.
13. EuroProxima. Ivermectin ELISA, 5141IVER.
<http://europroxima.com/products/contaminants-and-residues/anthelmintics/ivermectin-elisa/>; www.europroxima.com. Accessed May 15, 2016.
14. Lopez Panqueva RP. Useful algorithms for histopathological diagnosis of liver disease based on patterns of liver damage. *Rev Colomb Gastroenterol* 2016;31:443-457.
15. González Reina A, Palomares Velosa JE, Parra JL, Silva Sakzuk J, Abuabara Y, Mojica JE *et al.* Determination of organophosphorus, carbamate insecticides and ivermectin residues in raw milk from cattle farms in the Colombian low tropics. Abstract 10. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2011;24:552-557.
16. Solis Rivera C, Wilcock A, Arellano Chavez S, Morales Loredó A, McEwen S. Prevalence of ivermectin residues in cattle slaughtered in federally inspected abattoirs in Nuevo Leon, Mexico. *Food Protect Trends* 2011;31(4):212-215.
17. Rübensam G, Barreto F, Barcellos Hoff R, Mara Pizzolato T. Determination of avermectin and milbemycin residues in bovine muscle by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence detection using solvent extraction and low temperature cleanup. *Food Control* 2013;29:55-60.
18. Toutain PL, Upson DW, Terhune TN, McKensie ME. Comparative pharmacokinetics of doramectin and ivermectin in cattle. *Vet Parasitol* 1997;72:3-8.
19. Mugford CA, Kedderis GL. Sex-dependent metabolism of xenobiotics. *Drug Meta Rev* 1998;30(3):441-498.
20. Idowu ET, Alimba CG, Olowu EA, Otubanjo AO. Artenether-lumefantrine treatment combined with albendazole and ivermectin induced genotoxicity and hepatotoxicity through oxidative stress in Wistar rats. *EJBAS* 2015;2:110-119

21. Mohsen G, Pourjafar M, Badiei K, Habibi H. Ivermectin toxicity in a goat herd. *Toxico Lett* 2011;211S:43-216.
22. Veit O, Beck B, Steuerwald M, Hatz C. First case of ivermectin-induced severe hepatitis. Case report. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006;100:795-797.
23. Yang CC. Acute human toxicity of macrocyclic lactones. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13:999-1003.