
Universidad de Guadalajara

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



DETERMINACION DE CORTICOESTEROIDES EN HIGADO Y
TEJIDO ADIPOSO DE BOVINOS COMO CONSECUENCIA DEL
MANEJO ANTE-MORTEM VALORADO MEDIANTE DOS
TECNICAS DE SACRIFICIO.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

HECTOR CRUZ MICHEL PARRA

GUADALAJARA, JAL.

FEBRERO 1991

A MIS PADRES
JUVENAL Y MA. GUADALUPE
POR SU APOYO

CON CARIÑO
A MI ESPOSA E HIJA
CYNTHIA Y PRISCILLA

A MIS HERMANOS POR SU CARIÑO
J. GUADALUPE
JOSEFINA
JOEL +
NORMA
ANABEL

A JUDY TEMORES
LETICIA BUENROSTRO
POR SU COLABORACION Y AYUDA

A MI UNIVERSIDAD
POR ABRIRME LAS PUERTAS AL CONOCIMIENTO
Y AL SABER

AL ASESOR DE TESIS
M.V.Z. MIGUEL CARBAJAL SORIA
POR SU AYUDA GRACIAS

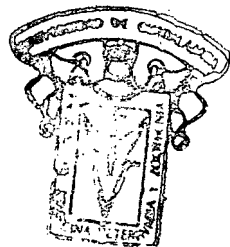
AL COASESOR M.V.Z. SILVIA RUVALCABA
POR SU ORIENTACION Y DEDICACION
MUCHAS GRACIAS

A MI JURADO CON RESPETO Y ADMIRACION
Q.F.B. CARMEN YOLANDA PARTIDA ORTIZ
DR. AGUSTIN RAMIREZ ALVAREZ
M.V.Z. SILVIA RUVALCABA
M.V.Z. PABLO HARO HARO
M.V.Z. PALEMON GARCIA REAL

AL M.V.Z. JOSE RIZO AYALA
POR SU APOYO GRACIAS

A MIS MAESTROS Y COMPAÑEROS
POR LA AYUDA Y APOYO BRINDADOS
EN LOS MOMENTOS DIFICILES

A MIS AMIGOS QUE DE UNA U OTRA FORMA
COLABORARON EN LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO
G R A C I A S

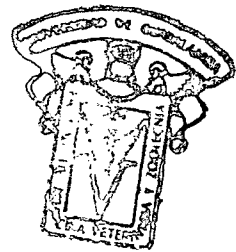


ACADEMIA DE
CIENCIAS EXACTAS,
FÍSICAS Y NATURALES

DETERMINACION DE CORTICOESTEROIDES
EN HIGADO Y TEJIDO ADIPOSEO DE BOVI
NOS COMO CONSECUENCIA DEL MANEJO -
ANTE-MORTEM VALORADO MEDIANTE DOS-
TECNICAS DE SACRIFICIO.

I N D I C E

	PAG.
INTRODUCCION.....	01
JUSTIFICACION.....	07
HIPOTESIS.....	08
OBJETIVO GENERAL.....	09
OBJETIVO PARTICULAR.....	10
MATERIAL Y METODO.....	11
PROCEDIMIENTO.....	13
RESULTADOS.....	19
DISCUSION.....	23
CONCLUSIONES.....	24
RESUMEN.....	25
BIBLIOGRAFIA.....	26



OFICINA DE
REVISION CIENTIFICA

I N T R O D U C C I O N

I N T R O D U C C I O N

Una de las funciones y responsabilidades del Médico Veterinario y Zootecnista, es abastecer a la población de productos y sub-productos de origen animal, libres de enfermedades y sustancias que afecten su salud. Esto se logra llevando a cabo un buen manejo zootécnico, aunado a un adecuado transporte desde las explotaciones pecuarias hasta los mataderos.

Tanto para los ganaderos como para los consumidores resulta indispensable que los animales lleguen a su destino en buenas condiciones, en poco tiempo y a un costo razonable.

Antiguamente los animales se trasladaban caminando, recorriendo grandes distancias; hoy en día, debido a que se requiere reducir el tiempo y mejorar las condiciones; el transporte se realiza en camiones, ferrocarril, barco e incluso avión, dependiendo el tipo de animales y las distancias que halla que cubrir.

El transporte es considerado como un manejo anterior al mortem, así como la llegada a los mataderos, el tiempo --

que permanecen en ellos antes del sacrificio, las dietas a que son sometidos, el acarreo, marcaje, inspección, etc. todos estos factores ocasionan en los animales un estado de tensión conocido como stress, caracterizado por cambios bioquímicos en el metabolismo, principalmente a nivel hormonal. (2).

En los animales expuestos a factores estresantes se ocasiona aumento de la secreción de hormonas provenientes de las glándulas suprarrenales. Ante una situación de alarma, el estímulo llega al hipotálamo induciendo a la liberación de la Hormona Adenocorticotropa (ACTH) en la hipófisis, ésta a su vez estimula a las suprarrenales para que se lleve a cabo la biosíntesis de hormonas esteroideas en la corteza y de catecolaminas en la médula, las cuales son liberadas al torrente sanguíneo y después se depositan en el tejido visceral, muscular y adiposo de los animales.

Los corticoesteroides son biológicamente inactivos en dosis pequeñas, pero al igual que otras sustancias, pueden ocasionar efectos indeseables en grandes dosis. Entre tales efectos encontramos: incremento en la retención del agua, hemorragias uterinas, mastodinia, fibromas uterinos, mastitis crónica, migraña y riesgo de trombofle

bitis. Si se consumen productos o sub-productos de origen animal, con grandes cantidades de corticoesteroides se corre el riesgo de padecer estos trastornos.

La F.D.A. en los Estados Unidos de Norteamérica tolera como residuo en tejidos animales comestibles hasta 1ppb (parte por billón). (9).

En la actualidad es posible detectar residuos en los tejidos de los animales muy inferiores al umbral capaz de producir una respuesta biológica en la célula, que es entre cinco mil y cien millones de moléculas. (9).

Para disminuir en lo más posible este depósito de sustancias consideradas como anormales en los diferentes órganos y tejidos se debe evitar producir un stress excesivo, tanto en el manejo ante-mortem, como durante el sacrificio.

Las técnicas de sacrificio modernas basadas en el método Europeo tienen como objetivo principal el disminuir el stress, produciendo un estado de inconsciencia antes de ser desangrado el animal.

A través de los años surgieron varios tipos de ma-

tanza.

- MATANZA KOSHER; este método consiste en seccionar los grandes vasos, tanto de entrada como de salida del corazón, por lo cual el animal sufre en stress prolongado, ya que la muerte se presenta por choque hipovolémico.

- PISTOLA DE DARDO; se usa en animales de difícil manejo, se logra con el disparo de un dardo con anestésico o sedante, lo cual permite la captura del animal para facilitar el sacrificio.

- MAZO; se produce un traumatismo en la zona craneofrontal, para lesionar MAZA ENCEFALICA y provocar un Estado de Inconsciencia al animal, se utiliza fundamentalmente en equinos.

- ARMAS DE FUEGO; al disparar una bala que se incruste en la masa encefálica, provoca un estado de inconsciencia.

- BIOXIDO DE CARBONO; se introducen a los animales a una cámara de gas con una concentración de 50 a 60% de bióxido de carbono (CO_2), perfectamente mezclado-

con 30% de oxígeno, que provoca inconsciencia.

- ELECTRICIDAD; se coloca un electrodo 5 cm. -- arriba de cada ojo y se hace pasar una corriente de 600 v. 6 amp. durante dos segundos, esto genera despolarización de las células nerviosas.

- PUNTILLA; se secciona a nivel del tallo cerebral a través de la articulación occipitoatlantoidea.

- PISTOLA DE EMBOLO OCULTO; el émbolo de la pistola penetra al cráneo y destruye la corteza cerebral. (3).

En la actualidad, se emplean con más frecuencia - en el caso de bovinos la puntilla y la pistola de émbolo - oculto, en cerdos y aves, la electricidad, en equinos el - mazo y en pequeños rumiantes el deguello.

En nuestro medio es grande el consumo de vísceras, sobre todo de bovinos y principalmente el hígado, dadas - sus propiedades organolépticas y nutricionales. Si comparamos el valor nutritivo del hígado con la carne magra, en - contramos que este órgano posee una cantidad similar en - protefna, (19.7%), contenido de carbohidratos mayor (6%) - es bajo en grasas y representa una fuente importante de mi

nerales y vitaminas, sobre todo las pertenecientes al grupo B. (13).

J U S T I F I C A C I O N

J U S T I F I C A C I O N

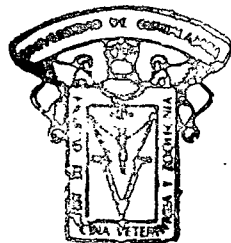
El manejo antemortem y los métodos de sacrificio que se llevan a cabo en la mayoría de los rastros municipales, producen en los animales un estado de stress, que hace que los niveles de corticoesteroides aumenten tanto en el torrente sanguíneo como en los órganos y tejidos en que se depositan. Estas sustancias pueden causar efectos indeseables en los humanos que ingieren los productos y subproductos de origen animal que las contienen.

Debido a que el hígado es un órgano con una gran importancia en el metabolismo animal, se depositan en él cantidades considerables de corticoesteroides. Por su elevado consumo como subproducto cárnico en nuestro medio, es importante determinar la concentración de sustancias que puedan afectar a los consumidores.

H I P O T E S I S

H I P O T E S I S

Los productos y subproductos de origen animal poseen elevadas concentraciones de corticoesteroides depositados en sus tejidos.



OFICINA DE
DIFUSION CIENTIFICA

OBJETIVO GENERAL

OBJETIVO GENERAL.

Determinar la concentración de corticoesteroides-
en hígado y tejido adiposo de bovinos.

O B J E T I V O P A R T I C U L A R

OBJETIVO PARTICULAR.

Establecer la diferencia que existe en las concentraciones de corticoesteroides en hígado y tejido adiposo en bovinos sacrificados mediante el método de puntilla, -- comparado con el de pistola de émbolo oculto.

M A T E R I A L Y M E T O D O

M A T E R I A L Y M E T O D O

MATERIAL:

BIOLOGICO: 12 BOVINOS RAZA CEBUINA.

DE LABORATORIO: EQUIPO, REACTIVOS Y CRISTALERIA DE USO COMUN PARA LA TECNICA DE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.

METODO:

Las muestras fueron tomadas en el Rastro Municipal de Zapopan, Jal., y se procesaron en un laboratorio de análisis biomédicos y toxicológicos particular.

Se seleccionaron los animales que reunieron las siguientes características: raza cebuina, sexo: macho edad 18-30 meses, peso: 300-400 Kg. y que además hubiesen estado sometidos a un manejo semejantes.

Se tomaron 6 muestras de animales sacrificados por el método de puntilla y 6 se sacrificaron por pistola de émbolo oculto.

Una vez sacrificados y eviscerados los bovinos se procedió a tomar las muestras consistentes en 100 gr. de Hígado y 10 gr. de tejido adiposo se colocaron en bolsas de plástico, se identificaron y se trasladaron al laboratorio en un thermo hielera a una temperatura de 8-10°C para su posterior procesamiento.

Se procesaron en el laboratorio según la técnica -- descrita por sunderman y sunderman modificada todas las de terminaciones se efectuaron por duplicado.

P R O C E D I M I E N T O

P R O C E D I M I E N T O

Se toma en un gramo de tejido y se macera en un mortero de porcelana.

Se recoge una muestra de macerado de tejidos en un frasco de boca ancha y de color ambar, al cual se agregaron previamente 15 ml. de ácido acético 6N y 5 ml. de formol. Se ajusta el pH de la muestra a 1-1.5 con el HCL -- concentrado.

Con el objeto de que se lleve a cabo la hidrólisis de los esteroides conjugados, deja la muestra en reposo 24 horas a temperatura ambiente.

Se mide el volumen total de la muestra en una probeta graduada y se separan dos porciones de 10 ml. cada una para el análisis. Cada porción se pasa a un embudo de decantación de 2000 ml.

Se agregan a cada embudo de decantación 150 ml. de cloruro de metileno y se mezcla por rotación durante un minuto. Se deja en reposo 10 minutos para que se separen --

las fases, se pasa después la capa inferior de cloruro de metileno a un embudo de decantación de 1000 ml. y se desecha el residuo de los tejidos.

Siguiendo la misma técnica, se extrae las muestras con 3 porciones adicionales de 150 ml. de cloruro de metileno.

Se reúnen los extractos de cloruro de metileno en el embudo de decantación de 1000 ml. y se desecha el residuo de tejido.

Los extractos mezclados de cloruro de metileno se lavan con 60 ml. de NaOH 0.1 N fía, y se aspira la solución de NaOH.

De manera similar, se lavan los extractos mezclados de cloruro de metileno con 3 porciones de 60 ml. de agua destilada. Los líquidos de lavado acuoso se aspiran al embudo de decantación de 500 ml.

Se procede ahora a extraer la mezcla de NaOH con los líquidos de lavado acuosos, empleando 60 ml. de cloruro de metileno. El extracto de cloruro de metileno obteni

do se agrega a la mezcla de extractos de cloruro de metileno obtenidos previamente, y se desecha el residuo acuoso.

Se filtra el extracto de cloruro de metileno con un papel de filtro previamente lavado con disolvente, en un balón de 1000 ml. Se coloca el balón en baño de agua a 37°C y se evapora el contenido mediante corriente de nitrógeno, hasta un volumen de 5 ml. aproximadamente.

Se transfiere el residuo de la evaporación, junto con dos lavados con 5 ml. de cloruro de metileno y dos lavados con 5 ml. de alcohol etílico absoluto, a un balón de 25 ml.

Se evapora a sequedad el contenido de este balón en un baño de agua a 37°C , mediante una corriente de nitrógeno.

PRIMER FRACCIONAMIENTO CROMATOGRÁFICO.-

a) Preparación de la cámara cromatográfica.

Se recubre el interior de la cámara con una doble capa de placas Sólida-Gel F.

En un embudo de decantación de 3000 ml. se colocan 1800 ml. de coloroformo, 200 ml. de hexano, 100 ml. de formamida y 100 ml. de agua destilada. Se mezcla enérgica varios minutos y se deja en reposo otros 10 minutos para que se separen las fases.

Se pasan unos 200 ml. de la capa inferior de hexano y cloroformo a un Erlenmeyer con tapón de vidrio, y se guardan para su uso posterior.

El resto de la capa inferior de hexano y cloroformo se vierte por el papel de filtro que recubre la cámara cromatográfica. Se tapa ésta herméticamente y se deja en reposo total por lo menos dos días.

b) Cromatografía.-

Mediante micropipetas se aplican 25 microlitros de las soluciones patrones de corticoesteroides en las líneas de partida de cada canal lateral de la hoja cromatográfica.

Se observa inmediatamente el cromatograma con luz ultravioleta para la valoración de los puntos fluorescentes. Mediante comparación con los puntos del patrón "F" se calcula semicuantitativamente los corticoesteroides en las

aliquotas 1/16, 5/16 y 10/16, y se deduce así el contenido total por gramo de tejido.

Cloroformo, acetato de etilo y alcohol metílico en un balón de 25 ml. que contiene el residuo de esteroides, procedieron a su disolución por rotación suave. Con una micropipeta se aplica cuantitativamente la solución obtenida, al cromatograma, haciendo una angosta banda a lo largo de la línea de partida.

Se pasan porciones de 50 microlitros de la mezcla de cloroformo, acetato de etilo y alcohol metílico al balón, y se aplican después a la línea de partida del cromatograma. Generalmente bastan 2 o 3 porciones para la transferencia cuantitativa de los esteroides.

Se colocan el cromatograma en la cámara cromatográfica, llenando inmediatamente el recipiente de disolvente con la mezcla de hexano y cloroformo saturada con formamida y agua, que había sido reservada tal como se indicará en la "preparación del recipiente cromatográfico. Se deja llevar a cabo la migración cromatográfica durante 3 horas.

Se retira el cromatograma de la cámara cromatográfica y se suspende de una varilla de vidrio mediante bro-

ches. Se necesitan unos 10 minutos para que se evaporen - los disolventes.

Se corta cuidadosamente el canal central de la cromatograma. Conservándolo para la elución de los esteroi - des. Las porciones remanentes se depositan sobre una lámi - na de vidrio.

Se colocan 15 ml. de la solución de tetrazol en una probeta de 50 ml. con tapón de vidrio y se diluye 30 ml. - con NaOH 2N; se vierte cuidadosamente en seguida esta solu - ción alcalina sobre el cromatograma, para que los canales - laterales queden uniformemente saturados con el colorante. Así aparecen inmediatamente las manchas azules correspon - dientes a los corticoesteroides, se procede entonces a me - dir las distancias a que ha migrado cada componente desde - líneas de partida. Se deja secar después el cromatograma - a temperatura ambiente.

R E S U L T A D O S

R E S U L T A D O S

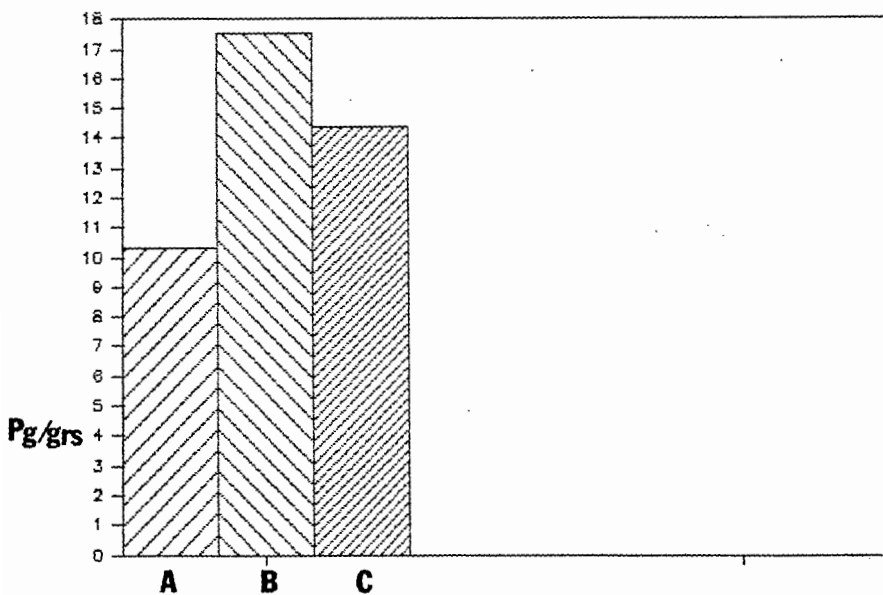
CUADRO No. 1

CONCENTRACION EN Pg. DE CORICOESTEROIDES EN
HIGADO DE BOVINOS.

No. DE MUESTRA	ANIMALES SACRIFICADOS POR PUNTILLA	ANIMALES SACRIFICADOS POR PISTOLA DE EMBOLO OCULTO.
1	10	12
2	10	15
3	10	18
4	20	20
5	10	20
6	10	20
	X= 10.3	X= 17.5

Grafica no 1.

VALORES DE CORTICOESTEROIDES EN HIGADOS DE BOVINOS COMPARANDO DOS TIPOS DE SACRIFICIO CON LO NORMAL .



A.- ANIMALES SACRIFICADOS CON EL METODO DE PUNTILLA

B.- ANIMALES SACRIFICADOS CON EL METODO DE ENBOLO OCULTO

C.- VALORES NORMALES DESCRITOE POR LOS INVESTIGADORES CORREIA A. DIAZ GRACA F.DA.IG

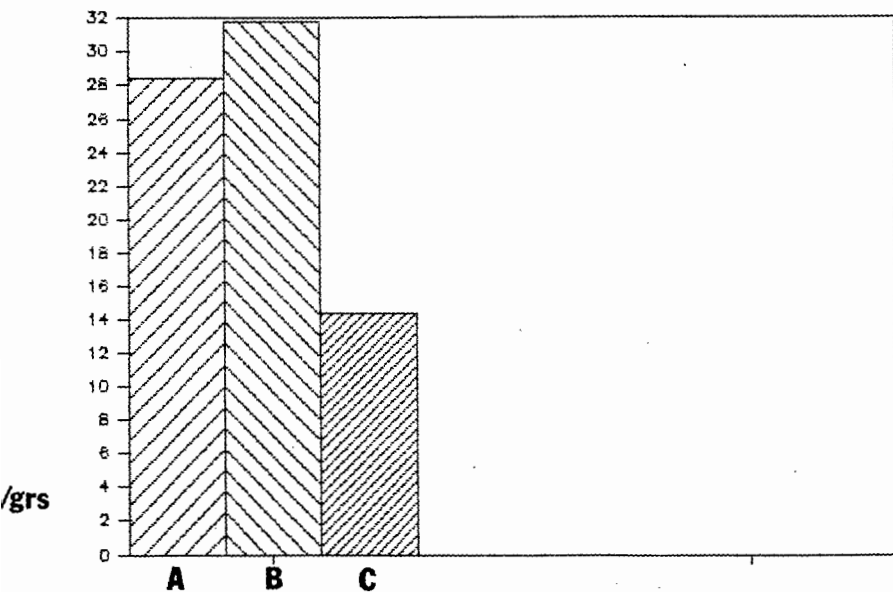
CUADRO No. 2

CONCENTRACION EN Pg DE CORTICOESTEROIDES EN
TEJIDO ADIPOSO DE BOVINOS.

No. DE MUESTRA	ANIMALES SACRIFICADOS CON PUNTILLA	ANIMALES SACRIFICADOS CON PISTOLA DE EMBOLO OCULTO
1	28	37
2	30	36
3	32	30
4	30	30
5	29	30
6	22	28
	X= 28.5	X= 31.8

Grafica No 2.

VALORES DE CORTICOESTEROIDES EN TEJIDO ADIPOSO DE BOVINOS COMPARANDO DOS TIPOS DE SACRIFICIO CON EL NORMAL .



A.- ANIMALES SACRIFICADOS CON EL METODO DE PUNTELLA

B.- ANIMALES SACRIFICADOS CON EL METODO DE ENBLO OCULTO

C.- VALORES NORMALES DESCRITOS POR LOS INVESTIGADORES CORREIA A. DIAZ GRACA F.D.A.18

D I S C U S I O N

D I S C U S I O N

Los resultados obtenidos varían mucho de acuerdo a los descritos como normales por Correia A.A. DIAZ GRACA F. da. 14.4 (8).

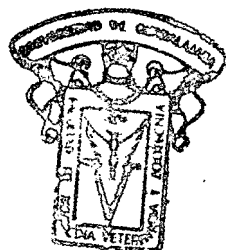
Los resultados obtenidos por sacrificio de pistola de embolo oculto. Son superiores a los obtenidos por el método de puntilla.

Por lo que existe una variación con lo esperado.

De acuerdo con las técnicas de matanza se esperaba que los animales sacrificados por pistola de embolo oculto, las concentraciones de corticoesteroides fueran superiores a los animales sacrificados por el método de puntilla.

Se cree que esto es debido a un mal manejo de la -- pistola de embolo oculto por parte del personal.

CONCLUSIONES



OFICINA DE
REVISION CIENTIFICA

C O N C L U S I O N E S

El manejo correcto de los animales antes y durante su sacrificio no solo tienen efectos favorables en cuanto a la calidad del producto final sino que también mejora no tablemente su calidad.

Deben modificarse los sistemas de manejo durante el transporte y del sacrificio de los animales productores de carne para obtener un producto de buena calidad.

Habrá que poner en prácticas medidas de control en los sacrificios de los animales destinados al consumo hu mano.

La variante que se presentó en los diferentes métodos de matanza. Probablemente se debe a un mal uso de la pistola de embolo oculto por lo tanto se propone que se ca pacite al personal que maneja dicha arma.

R E S U M E N

R E S U M E N

Los animales expuestos a un mal manejo ante-mortem ocasionan aumento de la secreción hormonal provenientes de las glándulas suprarrenales ante una situación de alarma - el estímulo llega al hipotálamo induciendo a la liberación de la hormona adenocorticotropa (ACTH) en la hipófisis ésta a su vez estimula a los suprarrenales para que lleve a cabo la biosíntesis de hormonas esteroideas en la corteza y de catecolaminos en la médula los cuales son liberados, - al torrente sanguíneo y después se depositan en tejidos -- visceral muscular y adiposo de los animales.

La cuantificación de los mediadores bioquímicos cuyas cantidades pueden ser incrementados en los productos - destinados a consumo humano, por las situaciones de stress verificadas en los mataderos antes del sacrificio. Uno -- tras otro pueden desencadenar en los consumidores perturbaciones indeseadas muy dependientes de la sensibilidad individual. Y puede indicar la necesidad de nuevos sistemas de preparación así como de la matanza de los animales.

B I B L I O G R A F I A

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- ALUJA A.S. BERRUECOS J.M. 1973 Problemas de Aprovechamiento de carne en el D.F. y su trascendencia al bienestar humano. Rev. Vet. México 2 pp. 166-175
- 2.- ALUJA A. S. PASCH L; MENDEZ D., URUCHURIU. 1974 Higiene, sacrificio y desperdicio en algunos rastros del país. Transporte de animales.
- 3.- ALUJA A.S. 1985 Necropsias en animales domésticos -- Métodos de eutanasia. Ceca México P. 13
- 4.- ANDRADE D.L. 1982 Patología especial de los animales domésticos. 2da. edición; Endocrinología Interamericana México P. 399.
- 5.- BAREHAM J.R. 1973 The concept of stress Vet. Rec. 93 pp. 682-683.
- 6.- BHAGAVAN N. V. 1978 Bioquímica Interamericana S.A. - México.
- 7.- CERVENKA J. 1969 Influencia of cattle Transportation under a high temperature of meat volve after slaughter Act. Vet. Br. 38 pp. 269-272.
- 8.- CORREIA A.A. DIAZ, GRACA F. Da. 1979 Ante-Mortem stress in slaughter animals and the probable abnor -

- mal meat composition resulting from various Biochemical metiaturis in procedings Budapest, Hungary 1 p.-53-58.
- 9.- Council on agricultural Science and technology veterinary and human toxicology 1977 19 p. 133
- 10.- FISHER P., BENDER A. 1978 Valor nutritivo de los alimentos. Limusa, México.
- 11.- LEHNINGER A.L. 1978 Bioquímica: Aspectos Bioquímicos de la acción hormonal. Omega S.A. España p. 817
- 12.- LEVINSON SAMUEL A. 1972 Diagnóstico clínico de laboratorio. El Ateneo, Argentina.
- 13.- NIINIVAARA P. F. ANTILA P. 1973 Valor nutritivo de la carne. Acribia, España.
- 14.- SUNDERMAN Y SUNDERMAN: Lípidis and the steroid hormones in clinical medicine. 76
- 15.- THORNTON H. 1971 Relación entre el stres fisiológico y la calidad de la carne. Rev. Vet. México P. 29-31.