

Tendencia de 2005 a 2010 de los niveles de Clembuterol en muestras de bovinos en Guerrero, México

Trend in levels of Clenbuterol in bovine samples from 2005 to 2010 in Guerrero, Mexico

Luis Alberto Chávez Almazán^a, Jesús Antonio Díaz Ortiz^a, Beatriz Pérez Cruz^a, Mario Alberto Alarcón Romero^a

RESUMEN

Este estudio se realizó entre 2005 y 2010 en las siete jurisdicciones sanitarias del estado de Guerrero, mediante la recolección de 1,221 muestras para el análisis de clenbuterol. Las jurisdicciones sanitarias que presentaron mayor cantidad de muestras contaminadas (clenbuterol >2000 partes por trillón -ppt-) fueron la Costa Grande y Norte con 38 y 37, respectivamente, mientras que la Costa Chica sólo presentó 6 casos. La orina y el hígado de bovinos fueron los especímenes más adecuados para la detección de este fármaco. Los resultados indicaron una disminución en el porcentaje de muestras contaminadas a partir del 2006 (20.0 %) hasta llegar a 7.1 % en 2009, no obstante, existió un ligero repunte al año siguiente (9.3 %). Existió una fuerte correlación entre estos porcentajes y los obtenidos a nivel nacional en el periodo 2007-2010 ($r=0.962$), con valores superiores en el Estado (media= 11.3 %; vs media nacional= 8.5 %) ($P<0.05$). Durante todo el periodo estudiado se analizaron 29 muestras de personas intoxicadas, que fueron confirmadas analíticamente en la orina de siete pacientes (24.0 %), cuyas concentraciones estuvieron entre 4,859 y 15,996 ppt (media: 10,100 ppt), en los restantes no se detectó el clenbuterol debido a que se utilizó suero sanguíneo. La implementación de la vigilancia sanitaria del clenbuterol logró reducir las muestras contaminadas y la ocurrencia de intoxicaciones en el Estado, no obstante, es necesario aplicar un monitoreo permanente a fin de prevenir riesgos para la población.

PALABRAS CLAVE: Clembuterol, Intoxicación alimentaria, Agonistas beta-adrenérgicos.

ABSTRACT

This study was done between 2005 and 2010 in seven health districts in Guerrero, México. Samples for clenbuterol analysis were collected ($n=1,221$). The health districts Costa Grande and Norte had a higher number of contaminated samples (Clenbuterol >2000 parts per trillion -ppt-), with 38 and 37, respectively, Costa Chica had only 6 cases. Urine and liver samples were the most appropriated for clenbuterol detection. The results showed a progressive decrease in percentage of contaminated samples from 2006 (20.0 %) up to 7.1 % in 2009, however, there was a slight increase next year (9.3 %). There was a strong correlation between the percentage of contaminated samples obtained in Guerrero and nationally in the 2007-2010 period ($r=0.962$) with higher levels in Guerrero (Mean= 11.3 %, National mean= 8.5 %) ($P<0.05$). During the study period 29 samples of intoxicated people were analyzed, which were confirmed in the urine of seven patients (24.0 %), whose concentrations were between 4,859 and 15,996 ppt (mean= 10,100), in the other samples of serum, clenbuterol was not detected. For health surveillance of clenbuterol was possible to reduce contaminated samples and the occurrence of poisoning; however, must be a permanent monitoring to prevent risks for the population of Guerrero.

KEY WORDS: Clembuterol, Food poisoning, Beta-adrenergic agonists.

INTRODUCCION

El clenbuterol ejerce un efecto selectivo estimulante sobre los receptores beta-adrenérgicos del músculo

INTRODUCTION

The Clenbuterol exerts a selective stimulating effect on beta-adrenergic receptors in the smooth vascular,

Recibido el 2 de agosto de 2011. Aceptado el 17 de octubre de 2011.

^a Secretaría de Salud de Guerrero, Laboratorio Estatal de Salud Pública "Dr. Galo Soberón y Parra", Departamento de Control Clínico y Ambiental, Laboratorio de Toxicología Ambiental y Forense. Blvd. Vicente Guerrero esq. J.R. Escudero S/N, Col. Cd. Renacimiento, 39715, Acapulco, Gro. México. Tel. (744) 4415257 ext. 24. chavez_79@hotmail.com. Correspondencia al primer autor.

liso vascular, miometrial y bronquial en humanos y animales causando su relajación, por lo que ha sido utilizado como agente tocolítico en animales de granja, además, cuando se combina con ambroxol es útil en el tratamiento de padecimientos respiratorios agudos o crónicos que cursan con secreción y broncoespasmo⁽¹⁻²⁾. Como consecuencia del tratamiento prolongado, esta droga actúa como un agente de repartición, estimulando la producción de proteínas y promoviendo la reducción de grasa en muchas especies animales⁽³⁻⁵⁾; debido a esta característica su uso ilegal en la ganadería ha cobrado un gran auge, ya que acelera la producción en un periodo más corto y con menor empleo de recursos⁽⁶⁻⁷⁾.

El principal problema de esta práctica es el riesgo para la salud humana derivado del consumo de productos cárnicos de animales que fueron tratados con este compuesto, ya que sus residuos producen efectos que comprometen principalmente al sistema cardiovascular y músculo-esquelético. Diversos reportes sobre intoxicaciones llevados a cabo en diferentes partes del mundo⁽⁸⁻¹³⁾ revelaron que los pacientes presentaron síntomas a partir de los 15 min y 6 h después de la exposición, con una duración variable entre 90 min y hasta 6 días. Los síntomas más frecuentes fueron taquicardia, temblores de extremidades, palpitaciones, ansiedad, prurito, nerviosismo, náuseas, dolor estomacal, diarrea, fiebre, dolor de cabeza, mareos, mialgias, astenia, dolor retro-ocular, hipertensión, vómito y debilidad muscular. Por otra parte, algunos reportes evidenciaron una disminución de electrolitos séricos (potasio, magnesio y fósforo), leucocitosis y aumento de la glucosa plasmática en humanos y animales^(4,9,13).

Por tales motivos, es de gran importancia la participación de las autoridades, tanto del orden estatal como federal en la atención a este problema; en este aspecto, la vigilancia sanitaria del clenbuterol, que actualmente forma parte del proyecto *Alimentos Potencialmente Peligrosos* y que se estableció desde el año 2005 por la Subsecretaría de Regulación, Control y Fomento

myometrial and bronchial muscle in humans and animals causing their relaxation, so it has been used as a tocolytic agent in farm animals; in addition, combined with ambroxol is useful in the treatment of acute or chronic respiratory ailments cursing with secretion and bronchospasm⁽¹⁻²⁾. As a result of the prolonged treatment, this drug acts as a repartitioning agent, stimulating the production of proteins and promoting the fat reduction in many animal species⁽³⁻⁵⁾; due to this feature illegal use in animal husbandry has become a boom since accelerates the production over a shorter period of time and with less resources⁽⁶⁻⁷⁾.

The main problem of this practice is the risk for human health of the consumption of meat products from animals fed with this compound, since their residues produce effects that compromise mainly the cardiovascular and muscle-skeletal systems. Various reports of poisonings carried out in different parts of the world⁽⁸⁻¹³⁾ revealed that the patients had symptoms from the 15 min and 6 h after exposure, with a variable duration between 90 min and up to 6 d. The most common symptoms were tachycardia, tremors of limbs, palpitations, anxiety, pruritus, nervousness, nausea, stomach pain, diarrhea, fever, headache, dizziness, myalgia, asthenia, retro-ocular pain, high blood pressure, vomiting and muscle weakness. On the other hand, some reports showed a serum electrolytes decrease (potassium, magnesium and phosphorus), leukocytosis and increased plasma glucose in human and animals^(4,9,13).

For such reasons, the participation of the authorities, both at the State and Federal level, is important in the attention to this problem. Here, the health surveillance of the clenbuterol, which is now part of the potentially hazardous food project and established since 2005 by the Undersecretariat of Regulation, Control and Health Promotion in the State of Guerrero, Mexico, who is intended to eradicate its use and prevent poisoning caused by contaminated meat of livestock. This project consists of verification visits to slaughterhouses, markets and self-service shops, to collect biological samples

Sanitario del estado de Guerrero, tiene la finalidad de erradicar su uso y prevenir intoxicaciones producidas por carne contaminada de bovinos. Este proyecto consiste en visitas de verificación a rastros, mercados y tiendas de autoservicio, en las que se realiza la recolección de muestras biológicas para el análisis de clorhidrato de clenbuterol por ensayo inmunoenzimático. En este trabajo se evaluó la tendencia en el número de muestras contaminadas con clenbuterol y una comparación de los resultados obtenidos de la vigilancia en Guerrero y a nivel nacional; se analizó la situación en las jurisdicciones sanitarias del Estado y, por último, se realizó un recuento de los casos de intoxicaciones en humanos, y un análisis de los resultados obtenidos por el inmunoensayo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Este estudio fue de tipo transversal, observacional, comparativo y retrospectivo. Se analizaron los resultados del programa de vigilancia sanitaria del clenbuterol aplicado en municipios de las siete jurisdicciones sanitarias de la entidad (Tierra Caliente, Norte, Centro, Montaña, Costa Grande, Costa Chica y Acapulco) y los casos de intoxicaciones por consumo de carne contaminada con este agente durante el periodo comprendido entre los años 2005 y 2010. Además, se compararon los resultados obtenidos en Guerrero con los datos producidos a nivel nacional entre 2007 y 2010⁽¹⁴⁾. La recolección de muestras se llevó a cabo de manera aleatoria por verificadores sanitarios de la Secretaría de Salud de Guerrero, en tanto que la extracción de muestras, la determinación cuantitativa del clenbuterol y los análisis de resultados del programa fueron realizados por personal del Laboratorio de Toxicología Ambiental del Laboratorio Estatal de Salud Pública “Dr. Galo Soberón y Parra”.

Manejo de muestras

Suero: se extrajeron 5 ml de sangre en tubos sin anticoagulante para después centrifugarla a 3,000

for clenbuterol hydrochloride analysis by immunoenzymatic assay. In this work it was assessed the trend in the number of samples contaminated with clenbuterol and a comparison of the results monitored in Guerrero and nationwide; the situation in health jurisdictions in the State and, finally, to know the number of cases of human poisoning, and analyze the results obtained by immunoassay.

MATERIALS AND METHODS

Study design

This study was observational, cross-sectional, comparative and retrospective. We analyzed the results of the clenbuterol health surveillance program applied in municipalities of seven health jurisdictions of the entity (Tierra Caliente, Norte, Centro, Montaña, Costa Grande, Costa Chica and Acapulco), and cases of poisoning by meat consumption contaminated with this agent during the period between the years 2005 and 2010. In addition, to compare the results obtained in Guerrero with data produced at the national level between 2007 and 2010⁽¹⁴⁾. The collection of samples was carried out in a random way by health verifiers of the Guerrero Health Ministry, while the samples extraction, the quantitative determination of the clenbuterol and the analysis of results of the program were made by the staff of the laboratory of environmental toxicology of the State Laboratory of Public Health “Dr. Galo Soberón and Parra”.

Sample handling

Serum: Extraction of 5 ml of blood in vials without anticoagulant, then centrifugation at 3,000 rpm during 5 min; a fraction of approximately 2 to 3 ml of serum was obtained.

Urine: Prior to the sacrifice about 30 to 50 ml of urine was deposited in plastic screw top bottles.

Liver, muscle and others: These were collected in the slaughterhouses, butchers in municipal markets and self-service shops; taken a sample with a weight

rpm durante 5 min, y se obtuvo una fracción de suero de aproximadamente 2 a 3 ml.

Orina: previo al sacrificio se obtuvieron aproximadamente 30 a 50 ml de orina que se depositaron en frascos de plástico con tapón de rosca.

Hígado, músculo y otros: estos fueron recolectados en los rastros, carnicerías de mercados municipales y tiendas de autoservicio; el peso tomado osciló entre 100 y 250 g y se colocaron en bolsas de polietileno con cierre hermético.

Preparación de la muestra

Suero y orina: se analizaron directamente sin tratamiento previo de extracción (los especímenes de orina que presentaron un aspecto turbio se centrifugaron por 5 min a 3,000 rpm).

Hígado, músculo y otros: 5 g de tejido se depositaron en un tubo para centrifuga de 50 ml, se le agregaron 25 ml de HCl 0,05 M y se colocaron en un agitador mecánico por 90 min; al término, 6 g del homogenizado se transfirieron a un tubo de 15 ml y se centrifugaron a una temperatura entre 10 a 15 °C, al sobrenadante se le agregaron 300 µl de NaOH 1 M y se mezcló por 15 min; finalmente, se le agregaron 4 ml de KH₂PO₄ 0,5 M y se homogenizó para dejarlo reposar otros 90 min en refrigeración; se centrifugó y purificó en cartuchos de extracción en fase sólida de tipo C18 (*r-biopharm*, Alemania).

Purificación de extractos

Se acondicionó el cartucho de extracción C18 con metanol y se agregó KH₂PO₄ 0,05 M (buffer de enjuague); el extracto se agregó y se llevó a cabo la elución adicionando nuevamente el KH₂PO₄ 0,05 M; la columna se secó y eluyó lentamente con 1 ml de metanol; la concentración del extracto se realizó a 50-60 °C bajo una corriente débil de aire; el residuo seco se reconstituyó con 400 µl de agua grado HPLC.

ranged between 100 and 250 g and placed in hermetically sealed polyethylene bags.

Preparation of the sample

Serum and urine: Were directly analyzed without a pre-treatment of extraction (urine specimens that presented a cloudy aspect were centrifuged by 5 min at 3,000 rpm).

Liver, muscle and others: 5 g of tissue were deposited in a 50 ml centrifuge tube, 25 ml of HCl 0,05 M were added and placed in a mechanical stirrer for 90 min; at the end, 6 g of the homogenized were transferred to a 15 ml tube and centrifuged at 10 to 15 °C, the supernatant were added with 300 µl of NaOH 1M and was mixed by 15 min; finally, 4 ml of KH₂PO₄ 0,5 M were added and were homogenized to let it cooling stand for other 90 min; it was centrifuged and purified in cartridges of extraction in solid phase of type C18 (*r-biopharm*, Germany).

Extracts purification

The C18 extraction cartridge was conditioned with methanol and KH₂PO₄ 0,05 M (rinsing buffer) added; the extract was added and the elution took place again adding the 0,05 M KH₂PO₄; the column was dried and was eluted slowly with 1 ml of methanol; the concentration of the extract was carried out at 50 to 60 °C under a weak air flow; the dry residue was reconstituted with 400 µl of water HPLC grade.

Sample analysis

A competitive enzyme immunoassay (*Ridascreen clenbuterol Fast*, *r-biopharm*; Germany)⁽¹⁵⁾ was realized, with spectrophotometric reading at 450 nm, which is established as the official method in the draft standard PROY-NOM-065-ZOO-2003 "Technical specifications for the eradication of the use of unauthorized beta-agonists in animals"⁽¹⁶⁾; the concentration of clenbuterol was expressed in units of parts by trillion (ppt), considering polluted, detected or positive samples, those who showed

Análisis de muestras

Se realizó un inmunoensayo enzimático competitivo (*Ridascreen Clembuterol Fast, r-biopharm; Alemania*)⁽¹⁵⁾, con lectura espectrofotométrica a 450 nm, el cual está establecido como método oficial en el proyecto de norma PROY-NOM-065-ZOO-2003 “Especificaciones técnicas para la erradicación del uso de beta-agonistas no autorizados en los animales”⁽¹⁶⁾; la concentración de clenbuterol se expresó en unidades de partes por trillón (ppt), considerando como muestras contaminadas, detectadas o positivas, aquellas que presentaron concentraciones mayores al valor de corte de 2,000 ppt; las muestras con resultados inferiores a este nivel se interpretaron como No detectadas con clenbuterol. Respecto a la calidad analítica del método, se cumplieron los criterios de aceptación descritos en la información técnica del equipo de diagnóstico y en el proyecto de norma citado.

Análisis estadístico

Se analizaron los resultados obtenidos del muestreo, y se calculó el porcentaje de muestras contaminadas de acuerdo a distintas variables como: jurisdicción sanitaria, tipo de muestra y año; se realizó una prueba de correlación bivariada (determinación del coeficiente de correlación (r) de Pearson) entre el porcentaje en mención y el número de personas intoxicadas por año; para determinar si existió una diferencia significativa entre los promedios de este porcentaje *versus* los obtenidos a nivel nacional del 2007 al 2010, se aplicó la prueba t-student con una confianza del 95 %; el análisis estadístico se realizó con el programa SPSS Statistics, versión 19 (IBM Corporation).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el periodo de estudio, se recolectaron 1,221 muestras, de las cuales en su mayoría fueron de hígado ($n= 713$) (Figura 1). El porcentaje de muestras contaminadas con relación al tipo de matriz biológica fue superior en orina (20.9 %), le siguió el hígado (16.0 %), suero (6.5 %) y, por

concentraciones greater than the cut value of 2,000 ppt; samples below this level were interpreted as not detected with clenbuterol. On the analytical quality of the method, the acceptance criteria described in the technical information of diagnostic kit and the afore mentioned standard project were met.

Statistical analyses

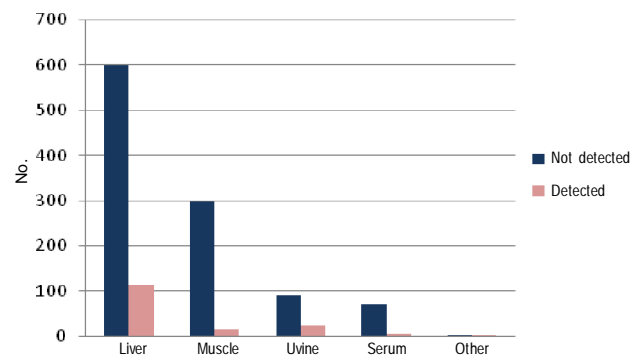
Sample results were analyzed and the percentage of contaminated samples was calculated according to different variables such as: health jurisdiction, type of sample and year. A test of bivariate correlation (determination of the correlation coefficient (r) of Pearson) was performed between the percentage in question and the number of persons intoxicated by year; to determine whether there was a significant difference between the averages of this percentage *versus* those obtained at the national level from 2007 to 2010, t-student test with a 95 % confidence was applied; statistical analysis was performed with the SPSS Statistics, version 19 (IBM Corporation) program.

RESULTS AND DISCUSSION

During the study period, 1,221 samples were collected, mainly liver ($n= 713$) (Figure 1). The percentage of contaminated samples with regard to the type of biological matrix was higher in urine

Figura 1. Resultados obtenidos por tipo de muestras recolectadas

Figure 1. Results obtained by type of sample recolected



Cuadro 1. Resultados generales del muestreo

Table 1. Overall results of the sampling

Year	Sample type	Result		Total	Contaminated (%)
		Detected	Not detected		
2005	Liver	19	72	91	20.9
	Muscle	8	14	22	36.4
	Serum	0	1	1	0.0
2006	Liver	40	147	187	21.4
	Muscle	5	37	42	11.9
	Serum	1	0	1	100.0
2007	Liver	1	0	1	100.0
	Urine	17	63	80	21.3
	Serum	0	14	14	0.0
2008	Liver	11	73	84	13.1
	Muscle	2	72	74	2.7
	Urine	6	27	33	18.2
	Serum	4	51	55	7.3
	Other	2	1	3	66.7
2009	Liver	17	135	152	11.2
	Muscle	0	94	94	0.0
	Urine	1	0	1	100.0
	Serum	0	5	5	0.0
2010	Liver	26	172	198	13.1
	Muscle	0	81	81	0.0
	Urine	0	1	1	0.0
	Serum	0	1	1	0.0

último, el músculo (4.8 %) (Cuadro 1); estos resultados son consistentes con estudios previos que demuestran que la orina es la principal vía de excreción de bovinos y otros modelos animales, y que el hígado es un órgano que absorbe de manera eficaz el clenbuterol después de haber sido administrado⁽¹⁷⁻¹⁹⁾; no obstante, deberá confirmarse la idoneidad del uso de estas matrices biológicas para la vigilancia sanitaria del clenbuterol mediante estudios de correlación.

Los casos de muestras contaminadas se encontraron por todas las regiones de Guerrero, siendo las jurisdicciones sanitarias Norte y Costa Grande las que presentaron cantidades más grandes con 37 (19.3 %) y 38 (17.1 %) casos, respectivamente,

(20.9 %), followed by the liver (16.0 %), serum (6.5 %) and, finally, the muscle (4.8 %) (Table 1). These results are consistent with previous studies showing that urine is the main route of clenbuterol excretion of cattle and other animal models, and that the liver is an organ that absorbs efficiently the clenbuterol after its administration⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. However, the suitability of the use of these biological matrices for health surveillance of the clenbuterol through correlation studies should be confirmed.

Cases of contaminated samples were spread throughout all regions of Guerrero, and health jurisdictions North and Costa Grande presented the larger amounts with 37 (19.3 %) and 38 (17.1 %) cases, respectively, followed by Tierra Caliente and

seguidas por Tierra Caliente y Montaña, con 24 (14.4 %) y 19 (15.7 %) cada una (Cuadro 2); la Costa Chica solamente presentó 6 durante el periodo. El tamaño del muestreo fue variable entre las jurisdicciones, con una escala que fue desde 121 en la Montaña hasta 222 especímenes recolectados en la Costa Grande; esta situación se explica por el hecho de que las visitas de verificación sanitaria fueron más frecuentes en aquellos municipios que registraron una mayor presencia del fármaco; de la misma manera, solamente los años 2006, 2008, 2009 y 2010 guardaron cierta similitud en la cantidad de muestras recolectadas, en el 2007 fue menor en tanto que el 2010 fue el año en el cual se intensificó la vigilancia con un total de 281.

En términos generales, se detectaron 160 muestras contaminadas (13.1 %) en todo el periodo (Cuadro 2). La tendencia observada fue de tipo descendente (Figura 2), en el año 2005 se obtuvo el valor más alto (23.7 %), aunque en cifras absolutas el 2006 registró la mayor cantidad (46 contaminadas); a partir de este año comenzó a disminuir gradualmente, y para el 2008 se redujo este porcentaje a la mitad respecto a años anteriores y disminuyó aún más en el año 2009; finalmente en el 2010 aumentó levemente concluyendo en 9.3 %. Estos datos se correlacionan fuertemente con los valores promedio obtenidos a nivel nacional en el periodo de 2007 a 2010 ($r= 0.962$); en la

Montaña, with 24 (14.4 %) and 19 (15.7 %) each one (Table 2); the Costa Chica only presented six cases during the period. Sample size was variable between jurisdictions, with a range from 121 in Montaña up 222 specimens collected in the Costa Grande. This situation is explained by the fact that health verification visits were more frequent in those municipalities which recorded a greater presence of the drug; in the same way, only the 2006, 2008, 2009 and 2010 years kept some similarity in the number of samples collected; in 2007 was lower while 2010 was the year in which surveillance was intensified with a total of 281 samples.

In general, 160 contaminated samples were detected (13.1 %) throughout the period (Table 2). The observed trend was downward (Figure 2); in 2005 the highest value (23.7 %) was found, although in absolute figures 2006 recorded the highest number (46 contaminated); starting that year it began to decrease gradually, and in 2008 this percentage was reduced to half with regard to previous years, declining further in 2009; finally in 2010 increased slightly to conclude at 9.3 %. These data correlate strongly with the average values obtained at the national level in the period from 2007 to 2010 ($r= 0.962$). In the comparison of means there was a significant difference between the percentage of Guerrero (11.3 %) and national level (8.5 %) ($P<0.05$).

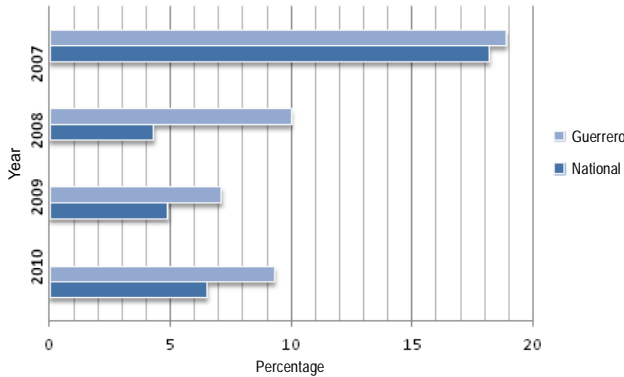
Cuadro 2. Muestras contaminadas / recolectadas por jurisdicción sanitaria

Table 2. Contaminated samples / collected by health jurisdiction

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	Total	Percentage
Tierra Caliente	7/18	9/45	1/2	2/29	2/34	3/39	24/167	14.4
Norte	3/17	7/39	9/28	7/33	2/37	9/38	37/192	19.3
Centro	5/19	4/29	0/15	4/66	1/36	4/45	18/210	8.6
Montaña	0/9	7/27	0/0	5/24	3/35	4/26	19/121	15.7
Costa Grande	5/14	9/33	7/49	6/53	8/28	3/45	38/222	17.1
Costa Chica	2/12	2/20	0/0	1/27	1/49	0/43	6/151	4.0
Acapulco	5/25	8/37	1/1	0/17	1/33	0/45	15/158	9.5
Annual, %	23.7	20.0	18.9	10.0	7.1	9.3	13.1	
n	114	230	95	249	252	281	1221	

Figura 2. Porcentaje de muestras contaminadas en Guerrero vs nivel nacional

Figura 2. Percentage of contaminated samples in Guerrero vs National



comparación de medias existió una diferencia significativa entre el porcentaje de Guerrero (11.3 %) y el de nivel nacional (8.5 %) ($P < 0.05$).

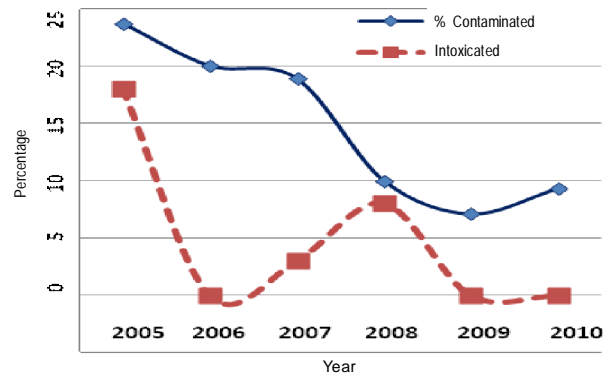
Durante estos años se presentaron 29 casos de personas con síntomas de intoxicación alimentaria por clenbuterol que fueron remitidas a este laboratorio para su análisis, confirmándose la presencia de residuos del β -agonista en la orina de siete pacientes (24.0 %), cuyas concentraciones estuvieron entre 4,859 y 15,996 ppt (media= 10,100 ppt); en los demás casos se recolectó suero y en ninguno hubo detección. Asimismo, a una persona se le tomaron ambas muestras, y se encontraron en orina 12,748 ppt de clenbuterol mientras que en suero no fue detectado; estos resultados son similares a estudios anteriores, que indican que la orina es la más adecuada para el análisis en intoxicaciones humanas⁽⁸⁻⁹⁾, aunque el número de individuos de nuestro estudio es limitado para realizar afirmaciones concluyentes al respecto. Existió una moderada correlación positiva entre el porcentaje de muestras contaminadas y la aparición de casos de intoxicación por cada año ($r = 0.541$) (Figura 3).

CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

Se requiere mayor investigación para determinar la muestra más adecuada en la detección de

Figura 3. Porcentaje de muestras contaminadas y casos de intoxicaciones por año

Figura 3. Percentage of contaminated samples and intoxications per year



During these years 29 cases of people with symptoms of food poisoning by clenbuterol were sent to the laboratory for analysis, confirming the presence of residues of the β -agonist in the urine of seven patients (24.0 %), whose concentrations were between 4,859 and 15,996 ppt (average= 10,100 ppt), serum was collected in the rest and detection was negative. Also a person who was double sampled, 12,748 ppt of clenbuterol was found in urine, but negative in serum. These results are similar to previous studies indicating that the urine is the most appropriate sample for analysis of human poisoning⁽⁸⁻⁹⁾, although the number of individuals in our study is limited to make conclusive statements thereon. There was a moderate positive correlation between the percentage of contaminated samples and the emergence of cases of poisoning each year ($r = 0.541$) (Figure 3).

CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

More research is needed to determine the most appropriate sample for the detection of clenbuterol in future monitoring programs, as well as studies of correlation between the results obtained in urine and serum of sufficient quantity of individuals intoxicated by this drug. The presence of clenbuterol residues has been constant over the period studied

clenbuterol para su selección en futuros programas de monitoreo, además de estudios de correlación entre los resultados obtenidos en orina y suero de una cantidad suficiente de individuos intoxicados por este fármaco. La presencia de residuos de clenbuterol ha sido constante a lo largo del periodo estudiado con tendencia a la baja; sin embargo, esto no puede confirmarse estadísticamente debido a que el muestreo realizado no obedeció a un esquema preestablecido y controlado; es importante señalar que las acciones de monitoreo deberán fortalecerse para disminuir el porcentaje de muestras contaminadas hasta lograr el promedio existente a nivel nacional, y enfocarse en las jurisdicciones sanitarias que registren mayores problemas. Los resultados obtenidos representan un reto para el programa de vigilancia sanitaria del clenbuterol en Guerrero, cuyo objetivo fundamental será reducir o erradicar su presencia a efecto de evitar riesgos sanitarios en la población.

AGRADECIMIENTOS

Al personal de la Subsecretaría de Regulación, Control y Fomento Sanitario de la Secretaría de Salud Guerrero, en especial al QBP. Pedro Salgado Sales y al Dr. Saúl López Silva por la operación del programa en todo nuestro estado. Al TLC. Alejandro Torres Jaramillo por la ayuda técnica recibida. Al Dr. Hugo A. Saldarriaga Noreña, a la QBP. Katia Campos Iturralde y al Dr. Gustavo Dávila Vázquez por la revisión crítica del manuscrito y sus valiosas aportaciones.

LITERATURA CITADA

1. Ménard L. Tocolytic drugs for use in veterinary obstetrics. *Can Vet J* 1984; 25:389-393.
2. Nials AT, Coleman RA, Johnson M, Magnussen H, Rabe KF, Vardey CJ. Effects of β -adrenoreceptor agonists in human bronchial smooth muscle. *Br J Pharmacol* 1993;110:1112-1116.
3. Stoffel B, Meyer HHD. Effects of the β -adrenergic agonist clenbuterol in cows: lipid metabolism, milk production,

with downward trend; however, this cannot statistically confirm as the sampling carried out was not a predetermined and controlled scheme. It is important to note that monitoring actions should be strengthened to reduce the percentage of samples contaminated up to achieve the average existing at the national level, and focus on health jurisdictions that register problems. The results represent a challenge for the program of health surveillance of the clenbuterol in Guerrero, whose fundamental objective will be to reduce or eliminate their presence in order to avoid health risks in the population.

ACKNOWLEDGMENTS

To the staff of the Undersecretariat of Regulation, Control and Health Promotion of the Ministry of Health Guerrero, in particular to the QBP Pedro Salgado Sales and Dr. Saúl López Silva by the operation of the program throughout our State. To TLC. Alejandro Torres Jaramillo by technical assistance received. To Dr. Hugo Saldarriaga Noreña, to QBP Katia Campos Iturralde and Dr. Gustavo Dávila Vázquez, for the critical revision of the manuscript and their valuable contributions.

End of english version

-
-
- pharmacokinetics, and residues. *J Anim Sci* 1993;71:1875-1881.
 4. Hoey AJ, Matthews ML, Badran TW, Peg GG, Silience MN. Cardiovascular effects of clenbuterol are β_2 -adrenoreceptor-mediated in steers. *J Anim Sci* 1995;73:1754-1765.
 5. Kearns CF, McKeever KH, Malinowski K, Struck MB, Abe T. Chronic administration of therapeutic levels of clenbuterol acts as a repartitioning agent. *J Appl Physiol* 2001;91:2064-2070.
 6. Mitchell GA, Dunnavan G. Illegal use of β -adrenergic agonists in the United States. *J Anim Sci* 1998;76:208-211.
 7. Kuiper HA, Noordam MY, van Dooren-Flipsen MMH, Schilt R, Roos AH. Illegal use of β -adrenergic agonists: European Community. *J Anim Sci* 1998;76:195-207.
 8. Salleras L, Domínguez A, Mata E, Taberner JL, Moro I, Salvá P. Epidemiologic study of an outbreak of clenbuterol poisoning in Catalonia, Spain. *Pub Health Rep* 1995;110(3):338-342.

9. Bilbao-Garay J, Hoyo-Jiménez JF, López-Jiménez M, Vinuesa-Sebastián M, Perianes-Matesanz J, Muñoz-Moreno P, *et al.* Clenbuterol poisoning. Clinical and analytical data on an outbreak in Móstoles, Madrid. *Rev Clin Esp* 1997;197(2):92-95.
10. Brambilla G, Cenci T, Franconi F, Galarini R, Macri A, Rondoni F, *et al.* Clinical and pharmacological profile in a clenbuterol epidemic poisoning of contaminated beef meat in Italy. *Toxicol Lett* 2000;114(1-3):47-53.
11. Chan TYK. Health hazards due to clenbuterol residues in food. *Clin Toxicol* 1999;37(4):517-519.
12. Barbosa J, Cruz C, Martins J, Silva JM, Neves C, Alves C, *et al.* Food poisoning by clenbuterol in Portugal. *Food Add Contam* 2005;22(6):563-566.
13. Hoffman RJ, Hoffman RS, Freyberg CL, Poppenga RH, Nelson LS. Clenbuterol ingestion causing prolonged tachycardia, hypokalemia, and hypophosphatemia with confirmation by quantitative levels. *Clin Toxicol* 2001;39(4):339-344.
14. Secretaría de Salud. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Acciones para la vigilancia sanitaria del clenbuterol en productos cárnicos. XX Reunión del Sistema Federal Sanitario. Los Cabos, BCS. 2010.
15. R-Biopharm AG. Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of Clenbuterol and other β -agonists. Darmstadt, Germany. 2010.
16. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Dirección General de Salud Animal. Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-065-ZOO-2003. Especificaciones técnicas para la erradicación del uso de beta-agonistas no autorizados en los animales. 2004.
17. Smith DJ, Paulson GD. Distribution, elimination, and residues of [14 C] Clenbuterol HCl in Holstein calves. *J Anim Sci* 1997;75:454-461.
18. Smith DJ. The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of β -adrenergic agonists in livestock. *J Anim Sci* 1998;76:173-194.
19. Prezelj A, Obreaa A, Pecar S. Abuse of clenbuterol and its detection. *Curr Med Chem* 2003;10(4):281-290.