



2024ko Apirilaren 25a - ZAMUDIOKO
PARKE TEKNOLOGIKOA

**ELIKAGAIEN
SEGURTASUNAREN
ARLOKO IKERKETA
EMAITZAK
TRANSFERITZEKO**

XI. JARDUNALDIA JORNADA

**DE TRANSFERENCIA DE
RESULTADOS DE
INVESTIGACIÓN EN
SEGURIDAD ALIMENTARIA**

25 de abril 2024
PARQUE TECNOLÓGICO DE ZAMUDIO



ÍNDICE

1. Objetivos del proyecto
2. Resultados relevantes para reducir riesgos en la cadena agroalimentaria vasca
3. Agentes colaboradores de la cadena agroalimentaria vasca y aplicabilidad en su sector
4. Actividades de difusión y transferencia realizadas

Antimicrobianos en muestras ambientales: un estudio exhaustivo desde el desarrollo de métodos de análisis hasta la evaluación de transferencia y degradación



1. OBJETIVOS

-
1. Desarrollo y validación de métodos analíticos para el análisis simultáneo de antimicrobianos (AMs) y productos de transformación (TPs) en muestras vegetales (lechuga, cebolla, tomate y zanahoria), suelos, estiércol animal y lombrices.
 2. Evaluación de la contaminación por AMs en hortalizas, suelos y estiércol recogidos en el País Vasco.
 3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.
-



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

1. Desarrollo y validación de métodos analíticos para el análisis simultáneo de AMs y TPs en muestras vegetales suelos, estiércol animal y lombrices.

Muestra

10 g hortaliza
2 g estiércol animal
5 g suelo
2 g gusano

Extracción

QuEChERS (10 mL ACN; 4 g Na₂SO₄ + 1 g NaCl + 0.5 g ácido cítrico + 0.05 g Na₂HPO₄)
Vortex
Centrifugación
Dilución de 1 mL del extracto con 20 mL de 0.05 M H₂citr⁻/Hcitr²⁻ (pH=4).

Limpieza

Extracción en fase sólida convencional o dispersiva (dSPE)

Análisis

Cromatografía de líquidos acoplada a un espectrómetro de masas de baja resolución triple cuadrupolo (UHPLC-QqQ) o de alta resolución qOrbitrap (UHPLC-HRMS)



I. Vergara-Luis *et al.* TALANTA, 2023



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

1. Desarrollo y validación de métodos analíticos para el análisis simultáneo de AMs y TPs en muestras vegetales suelos, estiércol animal y lombrices.

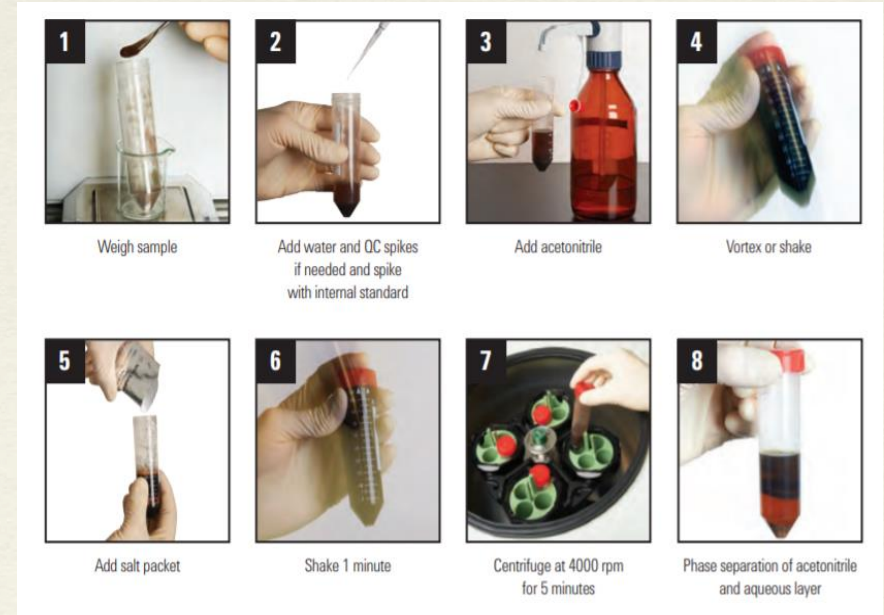
Extracción

QuEChERS (10 mL ACN; 4 g Na_2SO_4 + 1 g NaCl + 0.5 g ácido cítrico + 0.05 g Na_2HPO_4)

Vortex

Centrifugación

Dilución de 1 mL del extracto con 20 mL de 0.05 M $\text{H}_2\text{citr}^-/\text{Hcitr}^{2-}$ tampón (pH=4).

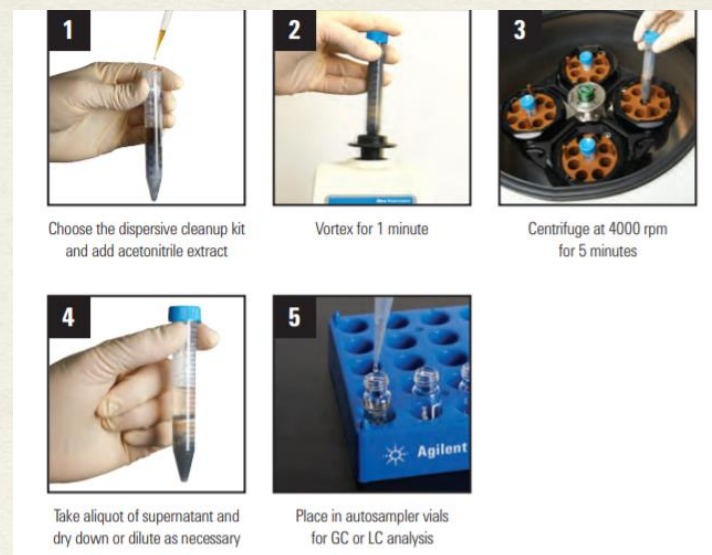


2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

1. Desarrollo y validación de métodos analíticos para el análisis simultáneo de AMs y TPs en muestras vegetales suelos, estiércol animal y lombrices.

Limpieza

Extracción en fase sólida convencional o dispersiva (dSPE)



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

1. Desarrollo y validación de métodos analíticos para el análisis simultáneo de AMs y TPs en muestras vegetales suelos, estiércol animal y lombrices.

Análisis

Cromatografía de líquidos acoplada a un espectrómetro de masas de baja resolución triple cuadrupolo (UHPLC-QqQ) o de alta resolución qOrbitrap (UHPLC-HRMS)



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

1. Desarrollo y validación de métodos analíticos para el análisis simultáneo de AMs y TPs en muestras vegetales suelos, estiércol animal y lombrices.

- Veracidad (70-130 %) y precisión (<30 %) adecuados.

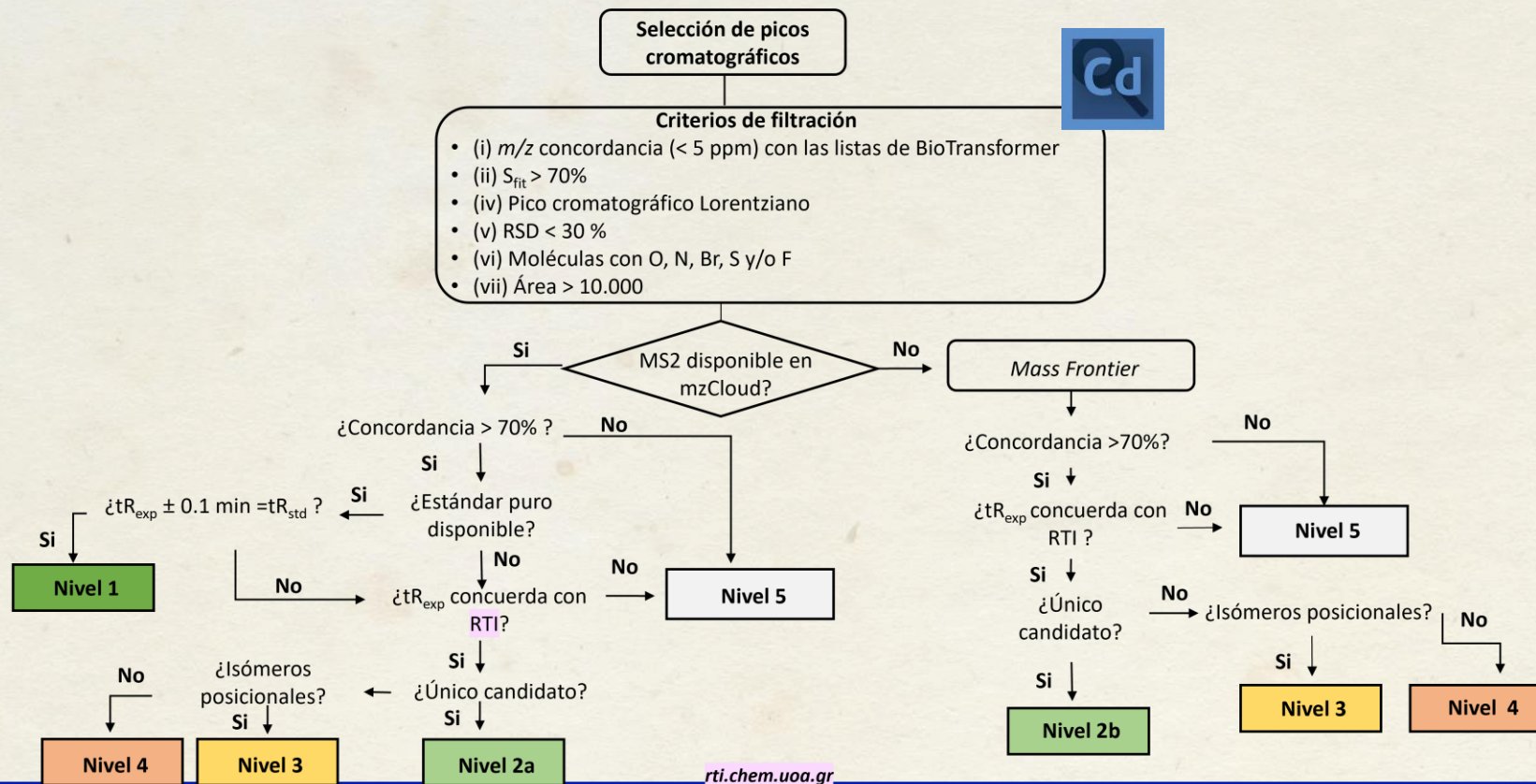
Límites de cuantificación ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

AMs	Suelo	Estiércol	Gusano	Lechuga	Tomate	Zanahoria	Cebolla
Sulfonamidas	0,5-7,5	0,3-2,9	1,5-3,9	0,1-1,2	0,1-0,5	0,1-1,0	0,1-1,3
Tetraciclinas	2,0-4,3	2,6-3,2	2,5-3,4	0,3-0,7	0,8-1,1	0,2-3,7	0,4-1,0
(Fluoro)quinolonas	5,8-9,9	1,2-15,8	1,6-9,6	0,5-4,9	0,5-3,4	0,5-10,0	0,7-3,2
Macrolidos	1,3-7,3	0,3-2,2	1,9-10,3	0,2-2,2	0,2-2,3	0,2-2,1	0,1-3,3
Thiabendazol	4,7	0,9	3,3	0,9	0,5	0,6	0,6
Trimethoprim	1,1	2,0	1,4	0,2	0,5	0,2	0,3
Fluconazol	2,4	0,9	5,6	1,5	1,2	0,7	0,9
Ácido micofenólico	4,7	2,1	1,9	2,2	0,6	1,0	0,3
Miconazol	0,7	2,1	3,4	1,1	0,6	1,6	0,5



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

1. Desarrollo y validación de métodos analíticos para el análisis simultáneo de AMs y TPs en muestras vegetales suelos, estiércol animal y lombrices.



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en hortalizas.



Muestras adquiridas en
supermercados y pequeños
comercios del País Vasco



Agricultura
no-ecológica



Agricultura
ecológica

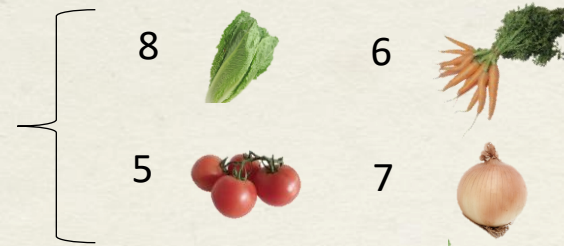


2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en hortalizas.



Agricultura
no-ecológica



Agricultura
ecológica



44 muestras

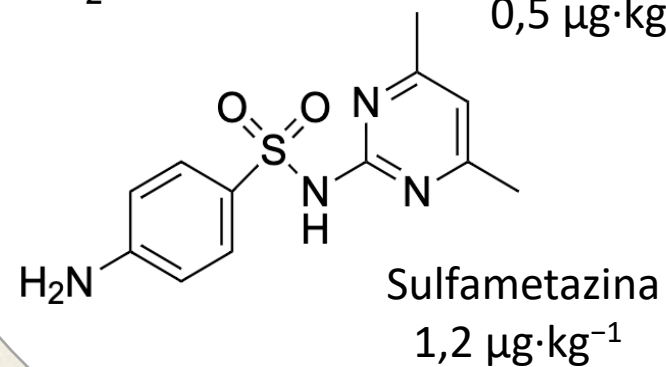
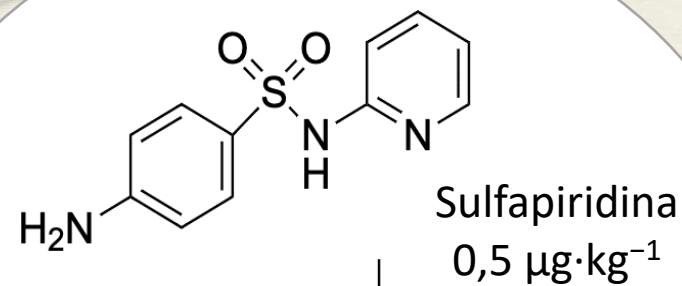
Muestras adquiridas en
supermercados y pequeños
comercios del País Vasco



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en hortalizas.

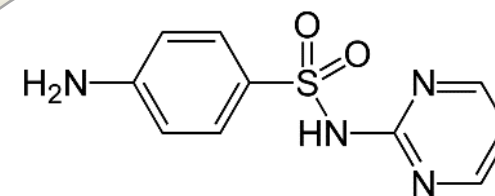
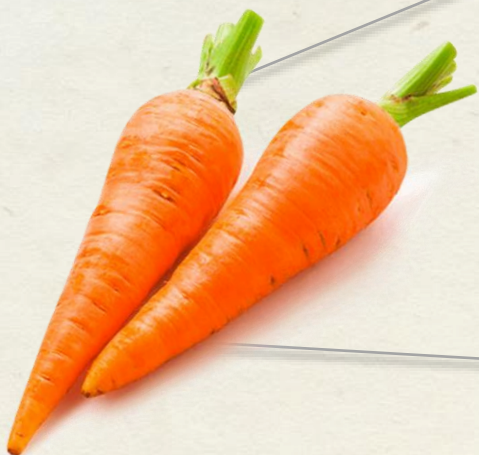
Análisis dirigido



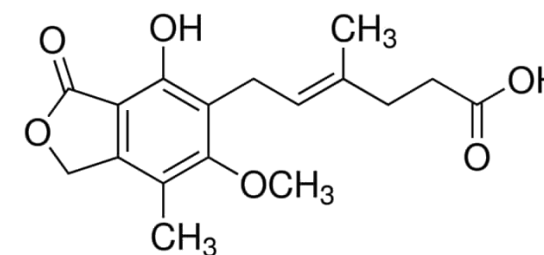
2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en hortalizas.

Análisis dirigido



Sulfadiazina <math><LOQ_{PROC}</math>



Ácido micofenólico <math><LOQ_{PROC}</math>



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en hortalizas.

SULFADIMIDINE

AddThis Sharing Buttons

Share to Print



Overview

CHEMICAL NAMES

4-AMINO-N-(4,6-DIMETHYL-2-PYRIMIDYL) SULFANILAMIDE

SYNONYMS

SULFAMIDINE; SULFAMETHAZINE

CAS NUMBER

57-68-1

FUNCTIONAL CLASS

Veterinary Drug
ANTIMICROBIAL_AGENT

Evaluations

Evaluation year: 1995

ADI:

0-0.05 mg/kg bw

Comments:

Considering all available information, including the studies evaluated at the 34th meeting, the Committee established an ADI of 0-50 µg/kg bw/day based on an overall NOEL of 5 mg/kg bw/day observed in rats and pigs for changes in thyroid morphology and applying a safety factor of 100. Although it was recognized that primates (including humans) are less susceptible than rats and pigs to the antithyroidal effect of sulfonamides, the Committee noted that in individuals sensitized to sulfonamides, hypersensitivity reactions may occur as a result of the ingestion of sulfadimidine residues in food of animal origin. In line with the previous evaluation, the Committee therefore recommended that the MRLs should be set as low as practically achievable. In doing so, the Committee also recognized that these concentrations would then be below the levels considered significant for microbiological concern.

MRL Comment:

MRLs: Muscle, liver, kidney and fat (cattle, sheep, pigs and poultry): 0.1 (expressed as parent drug, in mg/kg); Milk (cattle): 0.025 (expressed as parent drug, in mg/l); Eggs: no MRL allocated (should not be used in laying hens)
MRL

MRL Code:

Intake:

87.5 µg/p/day TMDI for sulfadimidine residues

Meeting:

42

Report:

TRS 851-JECFA 42/25

Tox Monograph:

FAS 33-JECFA 42/91

Residues:

FNP 41/2-JECFA 34/66 (1989)



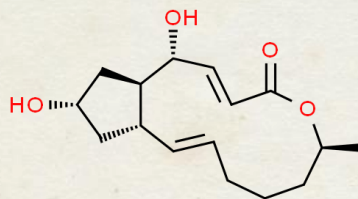
2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en hortalizas.

Análisis de sospechosos

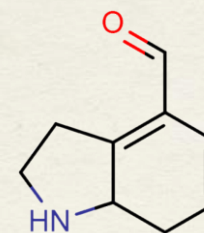
Brefeldin A

(antiviral)
Nivel 2b



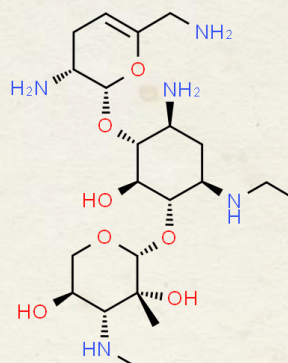
Indole-4-carboxaldehyde

(uso en síntesis farmacéutica)
Nivel 2a



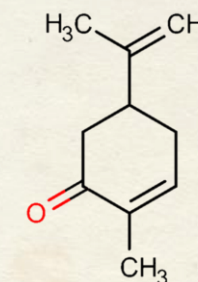
Netilmicin

(AM semisintético de la familia
de los aminoglicosidos)
Nivel 2a



Carvone

(antifúngico)
Nivel 2a

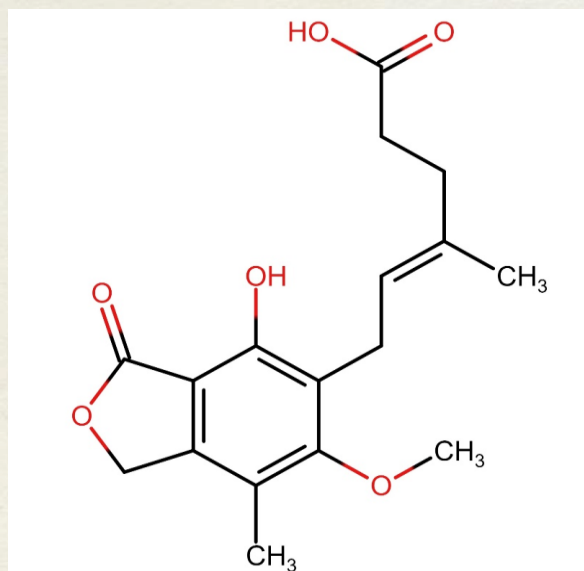


2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en hortalizas.

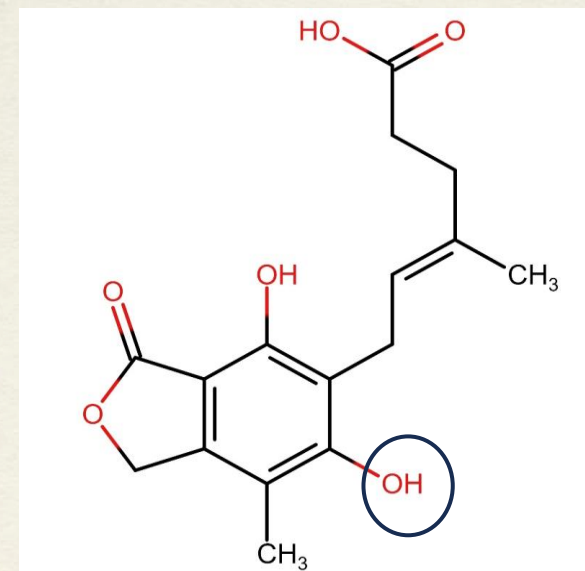
Análisis de sospechosos

Ácido micofenólico



m/z 321,12599

Desmetilación



m/z 307,11731

I. Vergara-Luis et al. Food Chemistry, 2023



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en hortalizas.

Análisis de sospechosos

Candidato	Fórmula	Nombre	Tiempo de retención (min)	Nivel de confianza	Agricultura ecológica				Agricultura no-ecológica				
					Lechuga	Cebolla	Zanahoria	Tomate	Lechuga	Cebolla	Zanahoria	Tomate	
1	C ₁₆ H ₂₄ O ₄	Brefeldin A	12,724	2b									✓
2	C ₂₁ H ₄₁ N ₅ O ₇	Netilmicin	7,741	2a			✓				✓		
3	C ₉ H ₇ NO	Indole-4-carboxaldehyde	7,071	2a	✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓
4	C ₁₀ H ₁₄ O	Carvone	13,177	2a	✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓
5	C ₁₆ H ₁₈ O ₆	TP of mycophenolic acid	13,793	2b			✓				✓		

I. Vergara-Luis *et al.* Food Chemistry, 2023



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en suelos y estiércol.



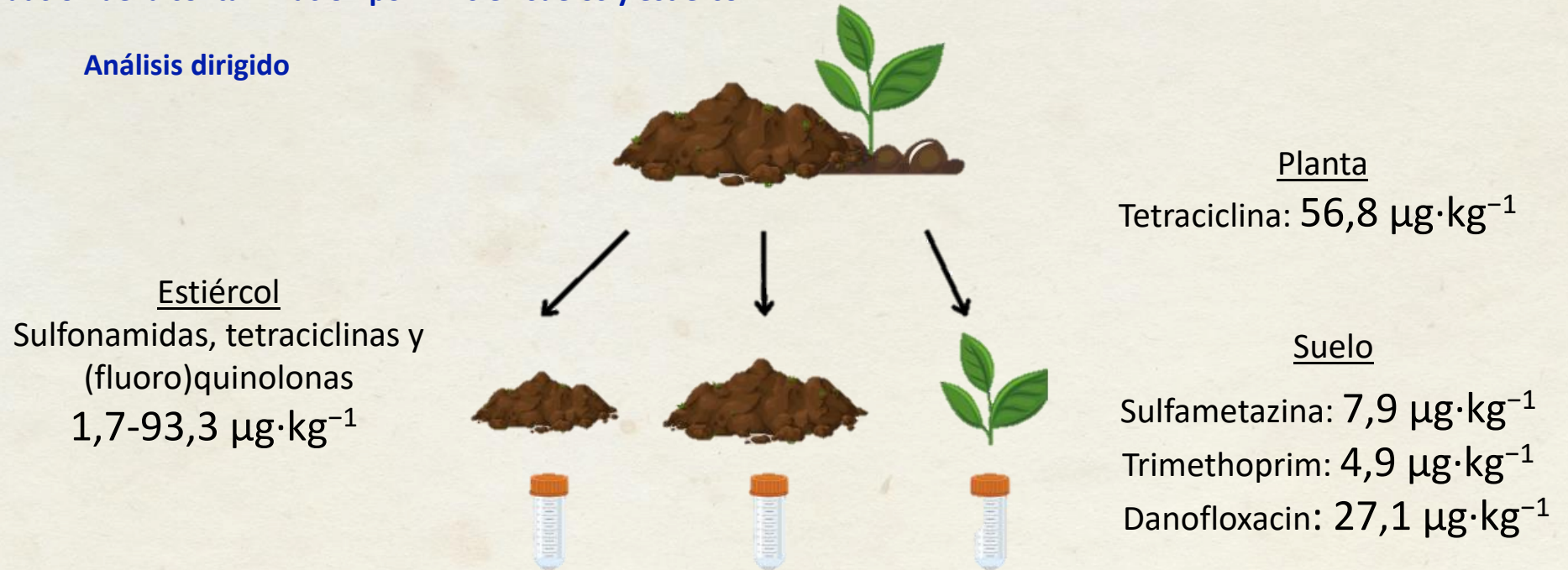
Muestras adquiridas en 4
producciones queseras



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en suelos y estiércol.

Análisis dirigido



I. Vergara-Luis *et al.* ABC, 2023

2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en suelos y estiércol.

Candidato	Nombre	Formula	m/z	Concordancia espectral con mzCloud	tR _{exp} [min]	Nivel de confianza ^a
1	Piperonylnitrile	C ₈ H ₅ N O ₂	148,03935	83,3	4,978	2a
2	Butyl 4-aminobenzoate	C ₁₁ H ₁₅ N O ₂	194,11772	68,5	10,325	2a
3	Indirubin	C ₁₆ H ₁₀ N ₂ O ₂	263,0814	89,1	9,01	2a
4	Propiconazole	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	342,07688	95,3	13,974	2a
5	5-Azulenemethanol, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro- .alpha.,.alpha.,3,8-tetramethyl-, (3S,5R,8S)-	C ₁₅ H ₂₆ O	223,2056	-	14,135	2b
6	Brefeldin A	C ₁₆ H ₂₄ O ₄	281,1745	-	12,012	2b
7	8-Hydroxyquinoline	C ₉ H ₇ N O	146,06008	97,1	7,085	3
	2-Hydroxyquinoline	C ₉ H ₇ N O	146,06008	97,8	7,085	3
8	Formyl-sulfamethazine	C ₁₃ H ₁₄ N ₄ O ₃ S	307,08576	77,3	5,028	2a

I. Vergara-Luis *et al.* ABC, 2023



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en suelos y estiércol.

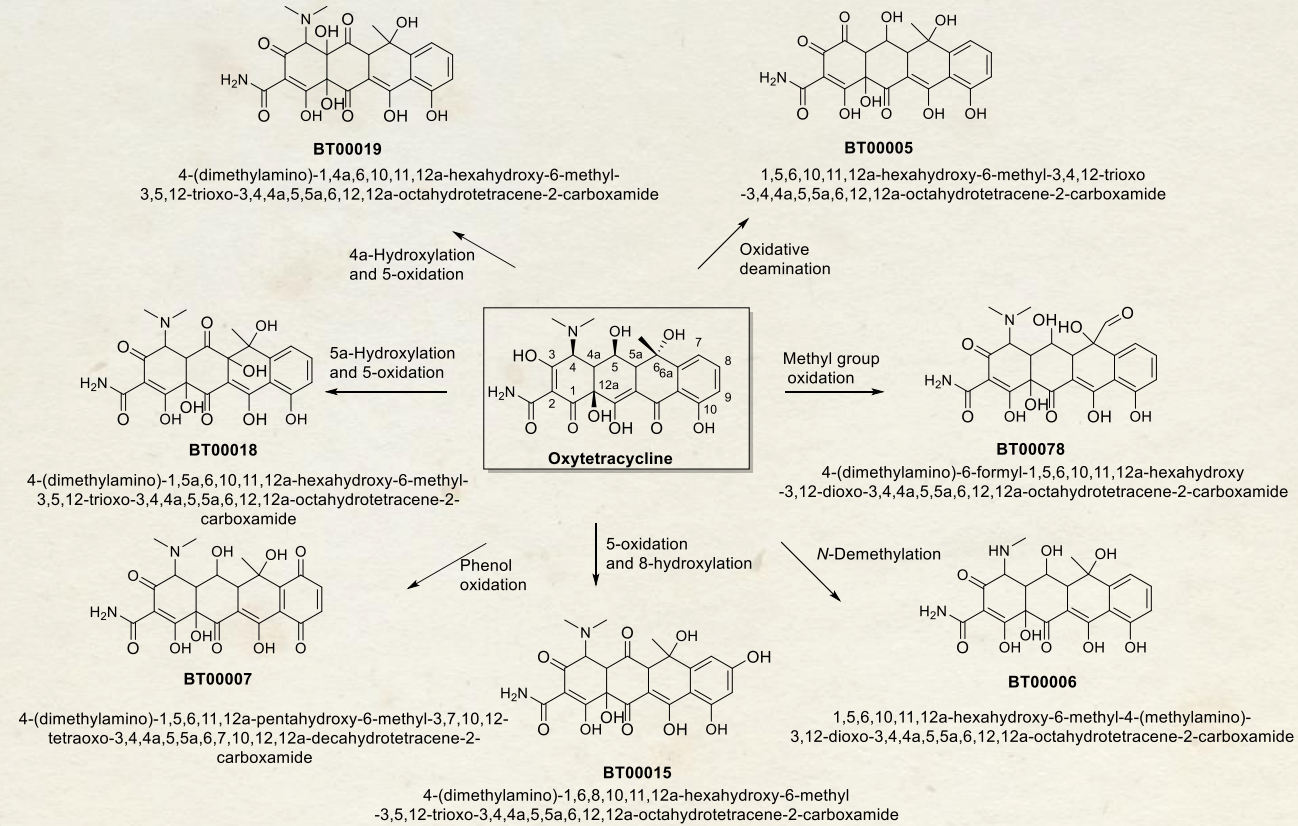
Suelos dopados con oxitetraciclina y sulfametoxazol
(dos de los compuestos más presentes en los suelos agrícolas)

- Concentraciones de $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
- Condiciones controladas de luz, temperatura y humedad
- Tiempo del experimento 30 días



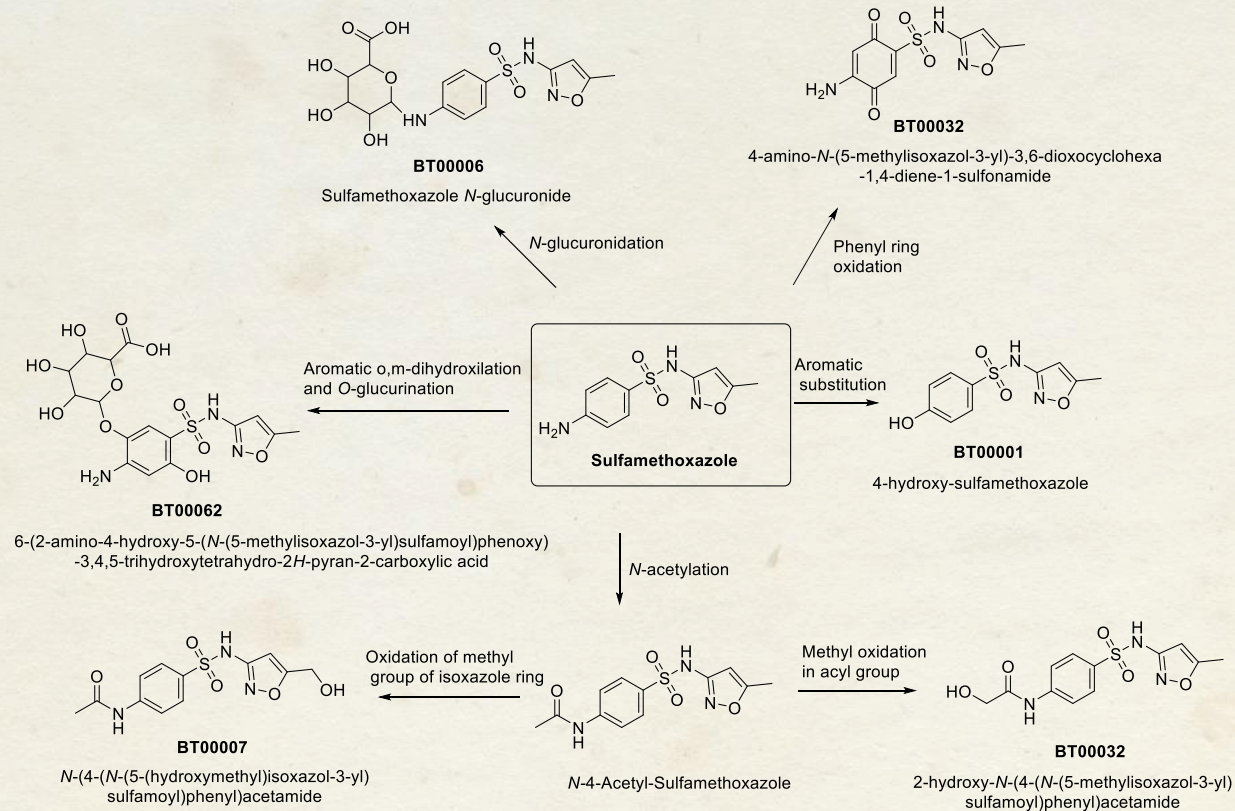
2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en suelos y estiércol.



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

2. Evaluación de la contaminación por AMs en suelos y estiércol.



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.

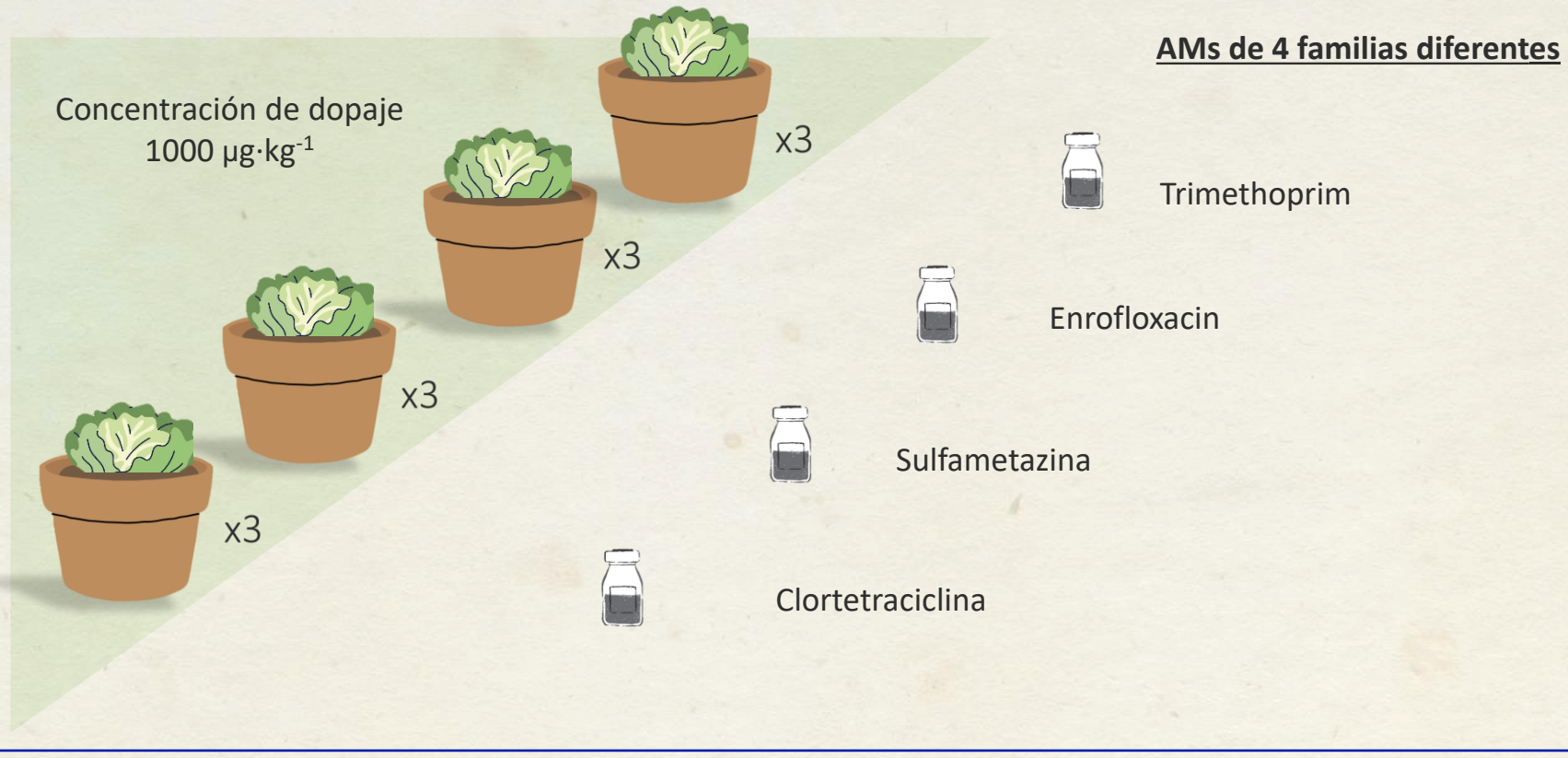


Substrato universal y semillas adquiridas en punto comercial de Álava



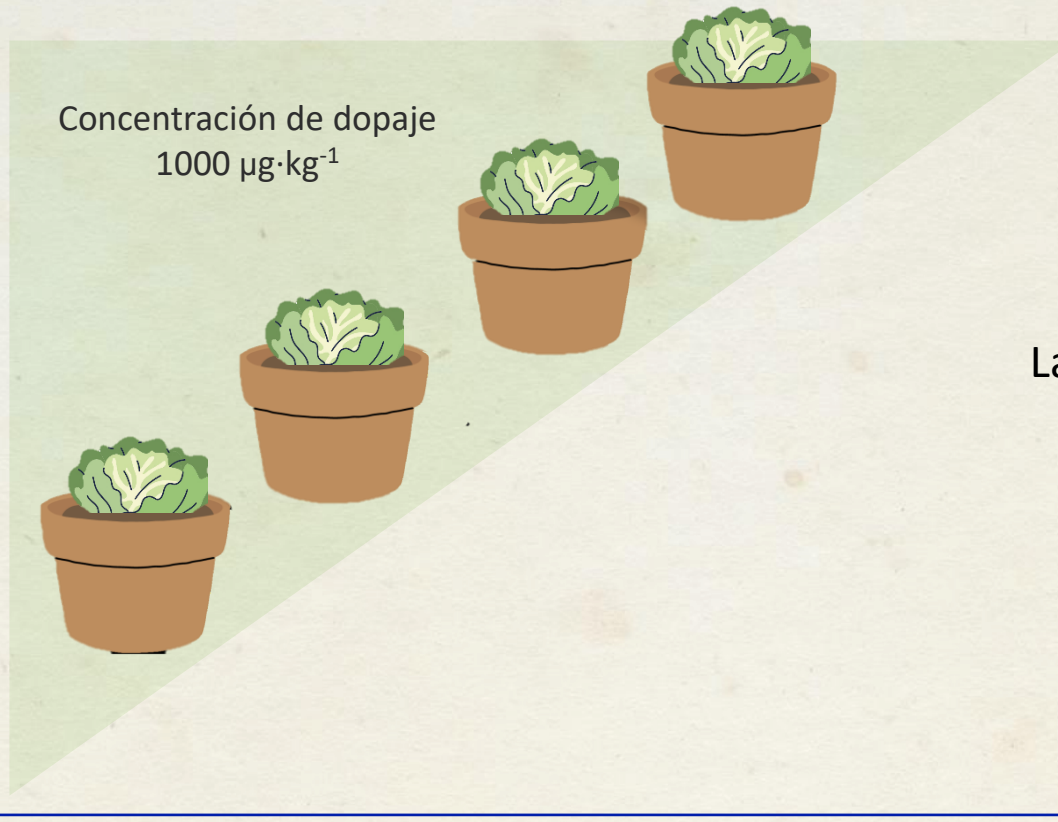
2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.



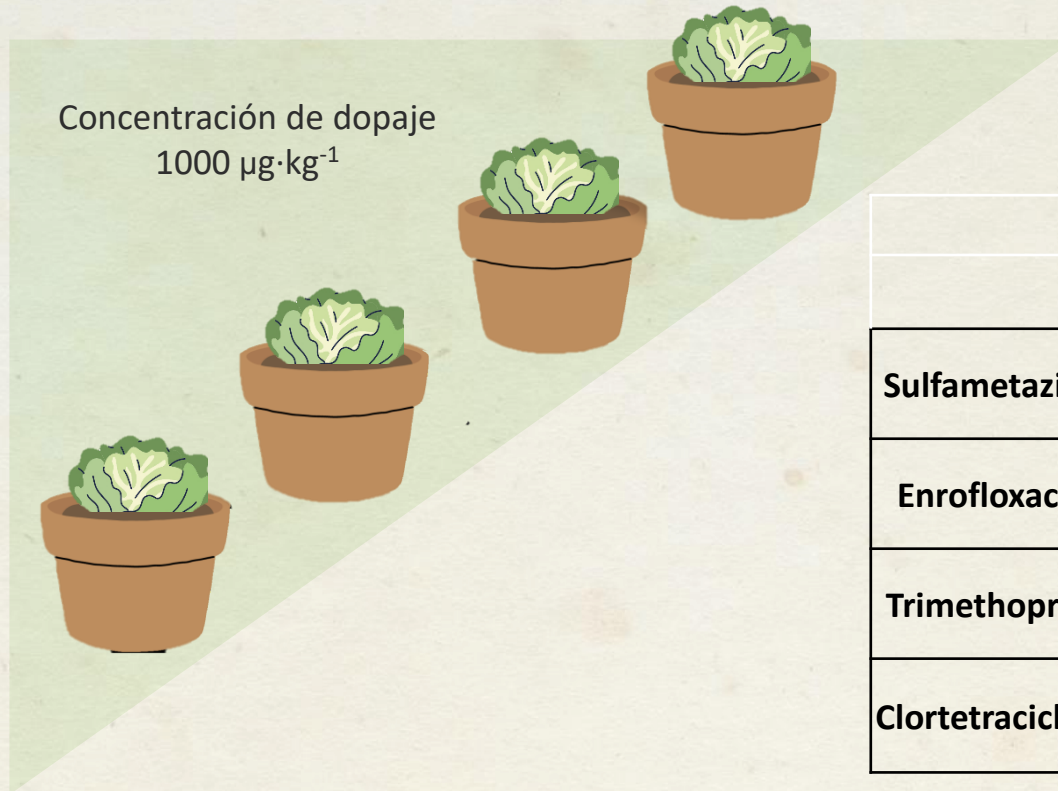
Las lechugas y el suelo se recogieron la 1ª y 3ª semana después del dopaje.



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.

Análisis dirigido



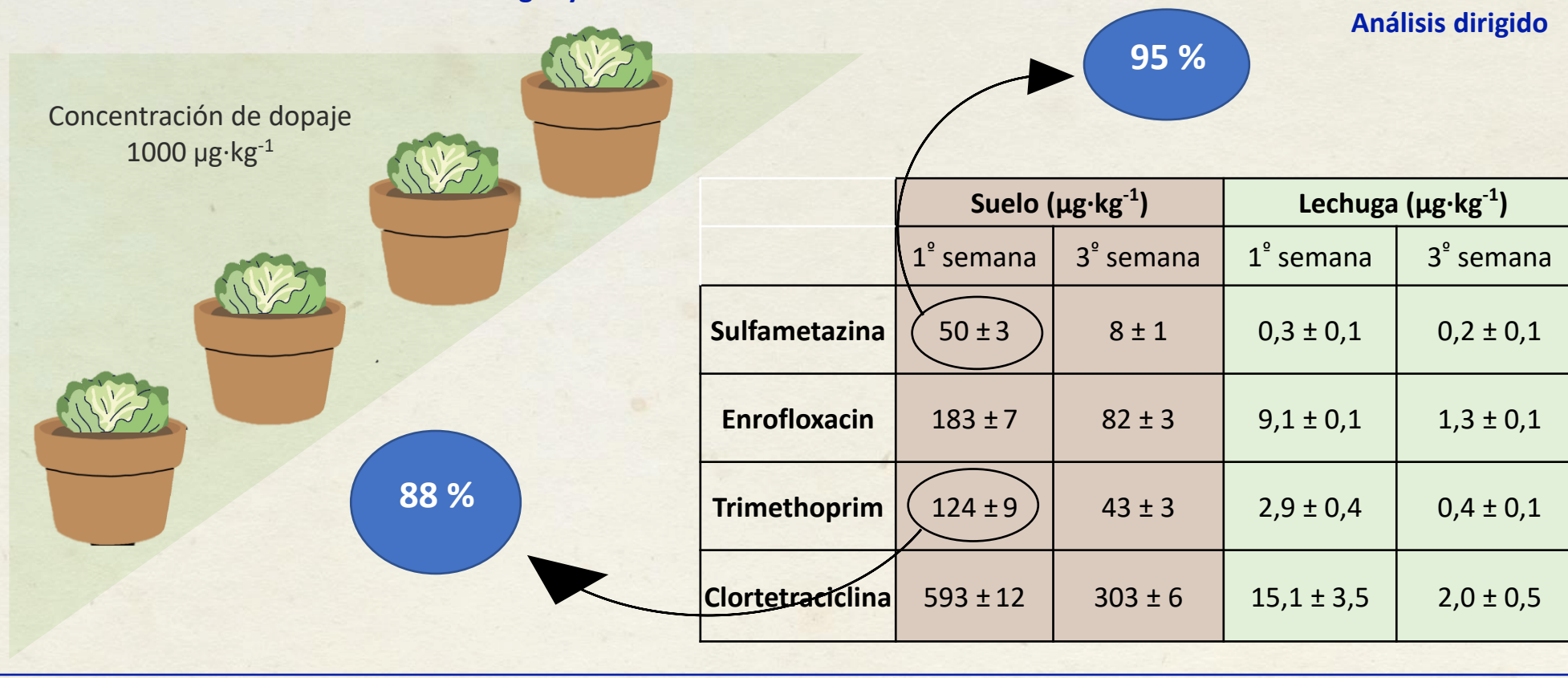
	Suelo ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)		Lechuga ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	
	1º semana	3º semana	1º semana	3º semana
Sulfametazina	50 ± 3	8 ± 1	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1
Enrofloxacin	183 ± 7	82 ± 3	9,1 ± 0,1	1,3 ± 0,1
Trimethoprim	124 ± 9	43 ± 3	2,9 ± 0,4	0,4 ± 0,1
Clortetraciclina	593 ± 12	303 ± 6	15,1 ± 3,5	2,0 ± 0,5



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.

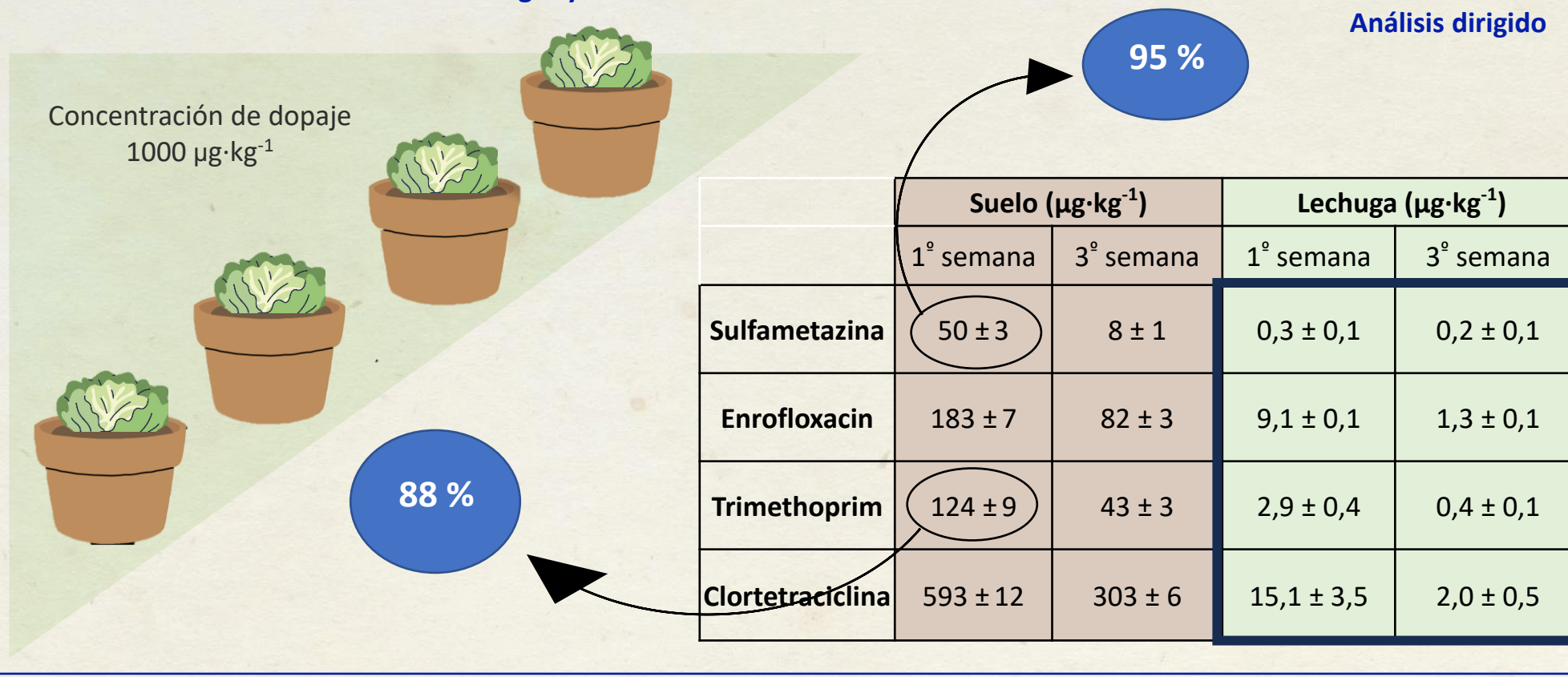
Análisis dirigido



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.

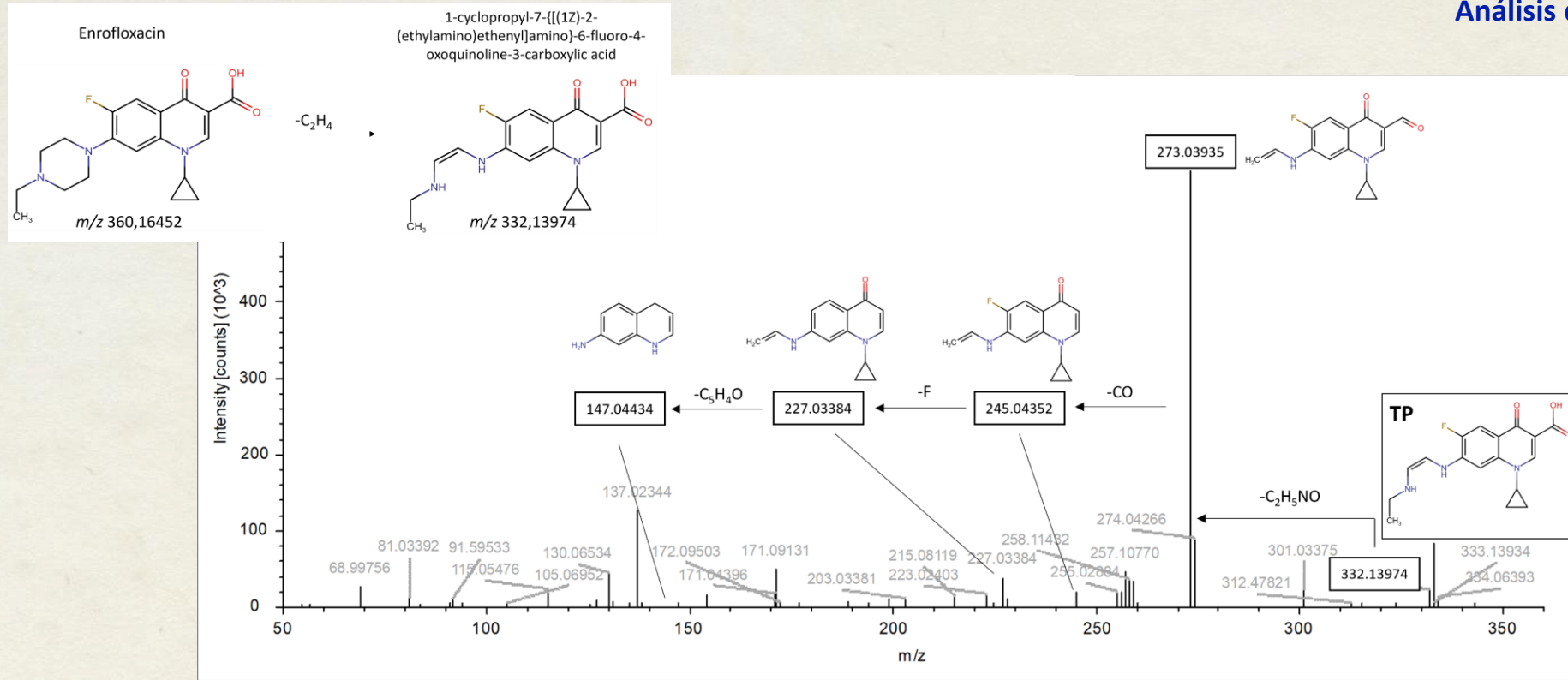
Análisis dirigido



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.

Análisis de sospechosos



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.

Soil test
(OECD-207)

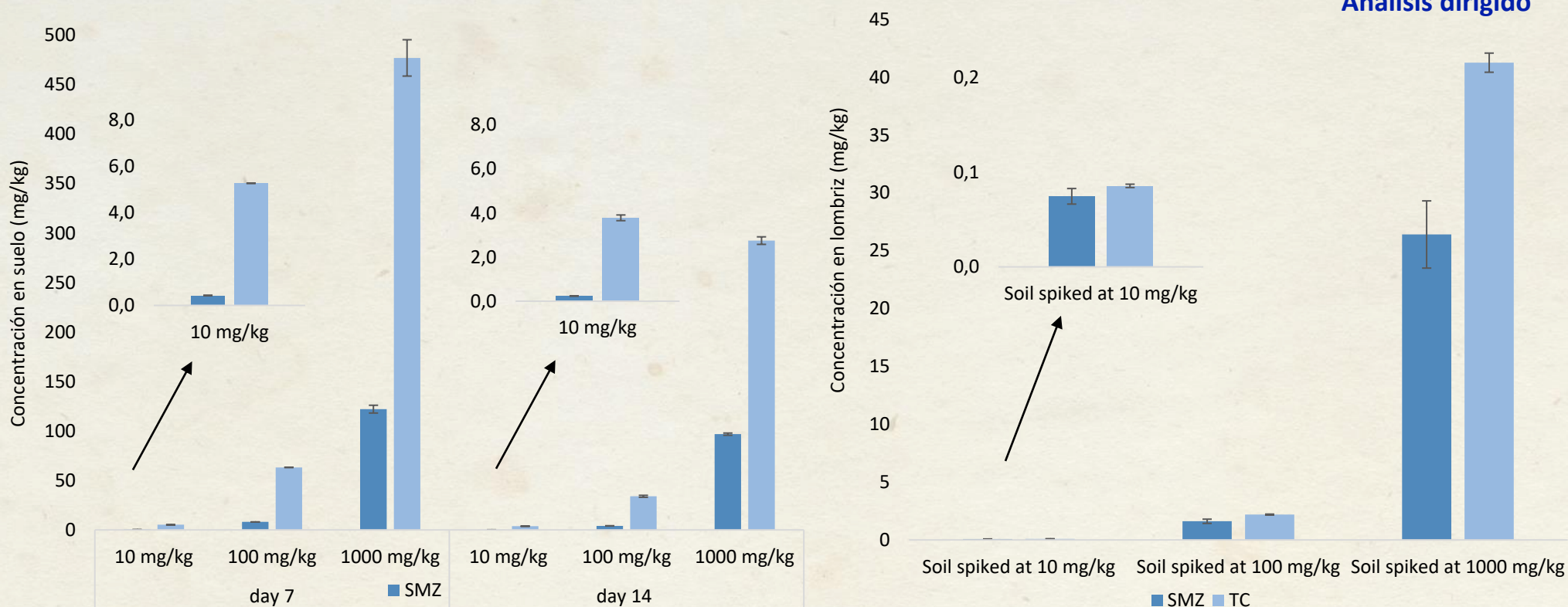


10 lombrices/tratamiento expuestos a 0, 10, 100 y 1000 mg·kg⁻¹ de sulfametazina y tetraciclina mediante suelo artificial OECD para determinar la absorción por **ingesta** y **vía dermal** durante 7 y 14 días.



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.



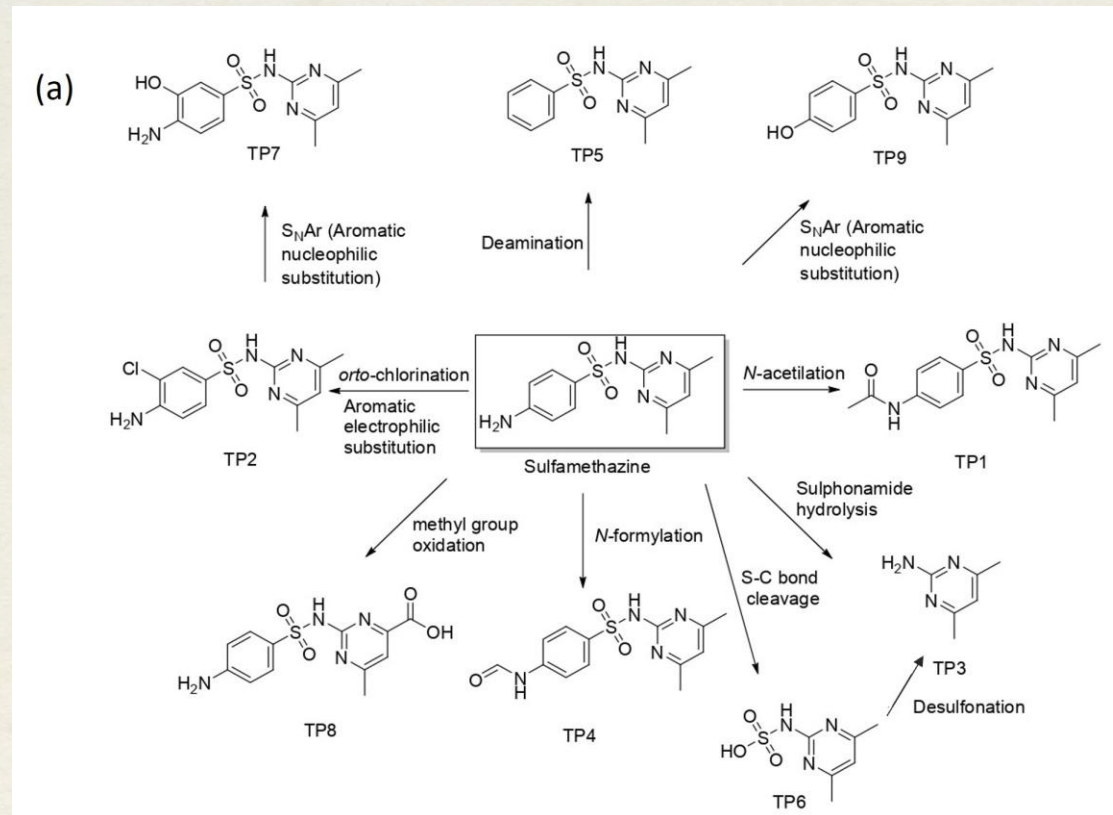
I. Vergara-Luis *et al.* STOTEN, 2024



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.

Análisis de sospechosos



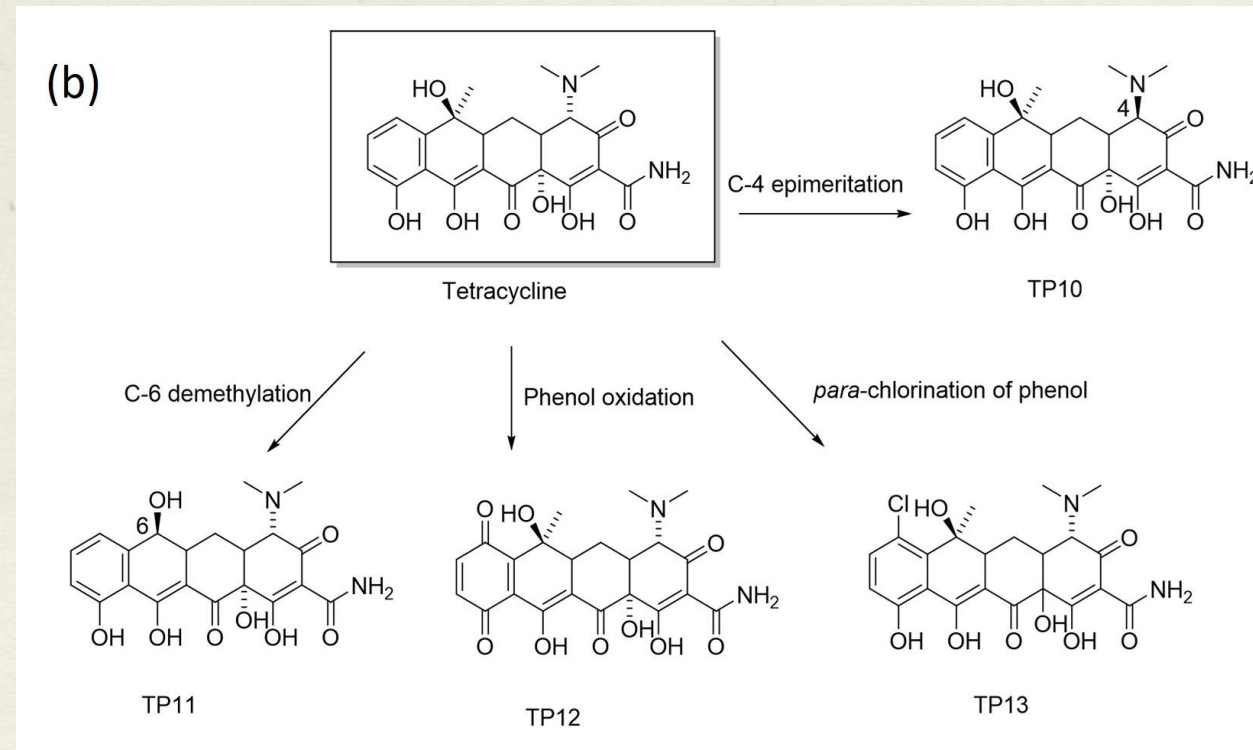
I. Vergara-Luis *et al.* STOTEN, 2024



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.

Análisis de sospechosos

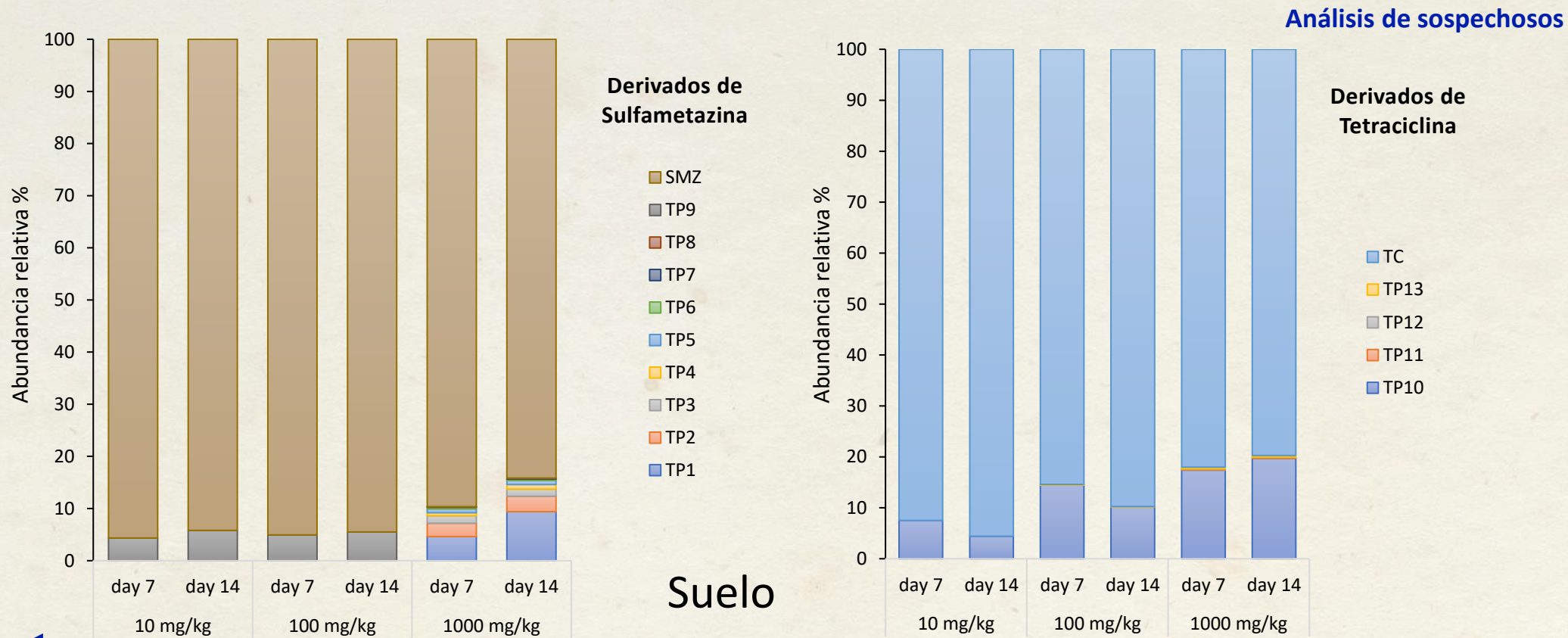


I. Vergara-Luis *et al.* STOTEN, 2024



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.



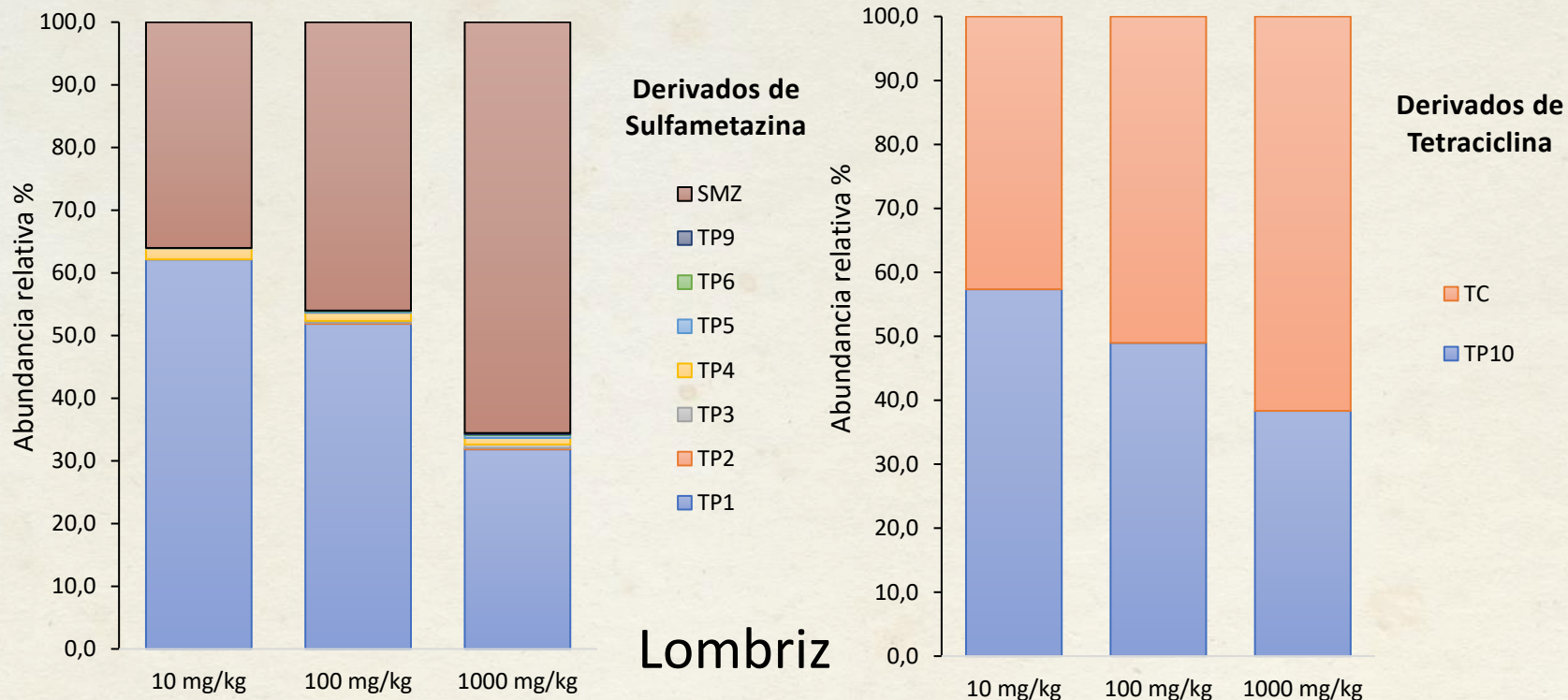
I. Vergara-Luis et al. STOTEN, 2024



2. RESULTADOS RELEVANTES PARA REDUCIR RIESGOS

3. Estudio de la transferencia de AMs a lechugas y lombrices cultivadas en suelos contaminados.

Análisis de sospechosos



I. Vergara-Luis et al. STOTEN, 2024



3. AGENTES COLABORADORES DE LA CADENA AGROALIMENTARIA VASCA Y APLICABILIDAD

Mediante este proyecto se han establecido y consolidado los **métodos y recursos bioanalíticos para la cuantificación de AMs e identificación de sus TPs** en diversas matrices medioambientales y se ha evaluado la dimensión del problema dentro de la CAPV.

Estas herramientas **quedarán a disposición**, para su posible aplicación en **rutinas de monitoreo** que permitirán un mayor control, mejorando la situación sanitaria y ambiental en Euskal Herria, lo cual permitirá abordar estudios multidisciplinares más ambiciosos.

Por ejemplo, el análisis de suelo permite disponer de un primer diagnóstico sobre la calidad de los diferentes suelos de cultivo y determinar si estos suelos están siendo afectados por la presencia de AMs debido a las prácticas agrícolas actuales empleadas. Por otra parte, permite identificar los potenciales puntos de entrada de AMs y **facilita la toma de medidas correctoras**.



3. AGENTES COLABORADORES DE LA CADENA AGROALIMENTARIA VASCA Y APLICABILIDAD


Agentes colaboradores

- Queserías de D.O Idiazabal
- CBET Research Group, Dept. Zoology and Animal Cell Biology, Faculty of Science and Technology, University of the Basque Country (UPV/EHU), Leioa, Basque Country, Spain
- Dept. Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Science and Technology, University of the Basque Country (UPV/EHU), Leioa, Basque Country, Spain
- Department of Plant Biology and Ecology, Faculty of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV/EHU), Vitoria-Gasteiz, Basque Country, Spain




4. ACTIVIDADES DE DIFUSIÓN Y TRANSFERENCIA

Artículos



Talanta
Volume 254, 1 March 2023, 124192



Comparison of conventional and dispersive solid phase extraction clean-up approaches for the simultaneous analysis of tetracyclines and sulfonamides in a variety of fresh vegetables

I. Vergara-Luis^{a, b}, J.C. Báez-Millán^a, I. Baciero^a, B. González-Gaya^{a, b}, M. Olivares^{a, b}, O. Zuloaga^{a, b}, A. Prieto^{a, b}


Home > Analytical and Bioanalytical Chemistry > Article

Multitarget and suspect screening of antimicrobials in soil and manure by means of QuEChERS — liquid chromatography tandem mass spectrometry


Research Paper | Open access | Published: 23 August 2023
Volume 415, pages 6291–6310, (2023) | Cite this article

Download PDF | You have full access to this open access article

I. Vergara-Luis, N. Bocayá, M. Irazola-Duñabeitia, O. Zuloaga, M. Lacuesta, M. Olivares & A. Prieto



Science of The Total Environment
Volume 922, 20 April 2024, 171214



Antimicrobials in *Eisenia fetida* earthworms: A comprehensive study from method development to the assessment of uptake and degradation

I. Vergara-Luis^{a, b, 1}, C.F. Rutkoski^{d, 1}, E. Urionabarrenetxea^{b, c}, E.A. Almeida^{a, e}, E. Anakabe^f, M. Olivares^{a, b}, M. Soto^{b, c}, A. Prieto^{a, b}



Food Chemistry
Volume 444, 30 June 2024, 138643



Multitarget and suspect-screening of antimicrobials in vegetables samples: Uptake experiments and identification of transformation products

I. Vergara-Luis^{a, b}, M. Jin^a, J.C. Baez-Millán^a, B. González-Gaya^{a, b}, I. Ijurco^c, M. Lacuesta^c, M. Olivares^{a, b}, A. Prieto^{a, b}



4. ACTIVIDADES DE DIFUSIÓN Y TRANSFERENCIA

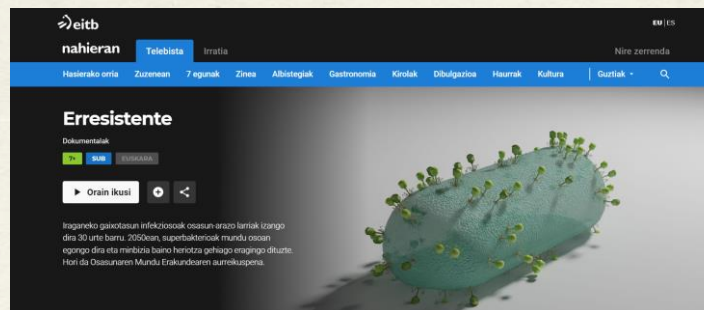
Divulgación

- *Akademiatik plazara. Ikertzaile gazte euskaldunak oholtzara. Noviembre 2023.*

- Entrevista para UEU. Febrero 2023.



- Documental *ERRESISTENTE*, Elhuyar, 2023.





Eskerrik asko!

