

	Pag.
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS ANTIBIÓTICOS	3
1.1.1. Clasificación	4
1.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS SULFONAMIDAS	8
1.2.1. Propiedades y estructura general	9
1.2.2. Clasificación	10
1.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS TETRACICLINAS	11
1.3.1. Propiedades y estructura general	12
1.3.2. Clasificación	14
1.4. EMPLEO DE ANTIBIÓTICOS EN VETERINARIA	16
1.4.1. Utilización de antibióticos en zootecnia	16
1.4.2. Consecuencias del empleo de antibióticos en animales de abasto	17
<i>1.4.2.1. Consecuencias para la salud humana</i>	18
<i>1.4.2.2. Problemas tecnológicos y analíticos</i>	19
<i>1.4.2.3. Problemas medioambientales</i>	20
1.5. LEGISLACIÓN Y CONTROL DE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS EN LOS ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL	22
1.6. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SULFONAMIDAS Y TETRACICLINAS	27
1.6.1. Métodos de confirmación o referencia	28
1.6.2. Métodos de barrido	29
<i>1.6.2.1. Métodos cromatográficos</i>	30
<i>1.6.2.2. Métodos microbiológicos</i>	31
<i>1.6.2.3. Métodos inmunoquímicos (ELISA)</i>	32
1.6.3. Determinación de sulfonamidas y tetraciclinas mediante ELISA	33
<i>1.6.3.1. Síntesis de haptenos para sulfonamidas</i>	34
<i>1.6.3.2. Síntesis de haptenos para tetraciclinas</i>	39
<i>1.6.3.3. Determinación de sulfonamidas en alimentos mediante ELISA</i>	42
<i>1.6.3.4. Determinación de tetraciclinas en alimentos mediante ELISA</i>	47
2. OBJETIVOS	53
3. PARTE EXPERIMENTAL	57
3.1. SÍNTESIS ORGÁNICA	59

	Pag.
3.1.1. Técnicas generales	59
3.1.1.1. <i>Técnicas cromatográficas</i>	59
3.1.1.2. <i>Técnicas espectroscópicas</i>	60
3.1.2. Reactivos	60
3.1.3. Síntesis de haptenos para sulfonamidas	61
3.1.3.1. <i>Haptenos tipo I</i>	61
3.1.3.2. <i>Haptenos tipo II</i>	71
3.1.3.3. <i>Haptenos tipo III</i>	74
3.1.4. Síntesis de haptenos para tetraciclinas	81
3.1.4.1. <i>Haptenos tipo I</i>	81
3.1.4.2. <i>Haptenos tipo II</i>	83
3.2. DESARROLLO DE INMUNOENSAYOS	86
3.2.1. Instrumentación	86
3.2.2. Reactivos y disoluciones	87
3.2.3. Protocolos generales	88
3.2.3.1. <i>Preparación de conjugados hapténicos, trazadores y reactivos auxiliares. Protocolos de conjugación</i>	88
3.2.3.2. <i>Determinación de la relación hapteno/proteína</i>	93
3.2.3.3. <i>Protocolo de inmunización y obtención de anticuerpos policlonales</i>	93
3.2.4. Ensayos inmunoenzimáticos. ELISAs	94
3.2.4.1. <i>ELISAs no competitivos</i>	94
3.2.4.2. <i>ELISAs competitivos</i>	95
3.2.4.3. <i>Optimización de los ensayos ELISA</i>	97
3.2.4.4. <i>Estudio de la selectividad de los ensayos</i>	97
3.2.4.5. <i>Efecto de los disolventes orgánicos</i>	100
3.2.4.6. <i>Análisis de muestras reales</i>	100
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	107
4.1. DISEÑO Y SÍNTESIS DE HAPTENOS	109
4.1.1. Diseño y síntesis de haptenos para sulfonamidas	110
4.1.1.1. <i>Haptenos tipo I</i>	112
4.1.1.2. <i>Haptenos tipo II</i>	119
4.1.1.3. <i>Haptenos tipo III</i>	121
4.1.2. Diseño y síntesis de haptenos para tetraciclinas	126
4.1.2.1. <i>Haptenos tipo I</i>	130
4.1.2.2. <i>Haptenos tipo II</i>	132
4.2. DESARROLLO DE INMUNOENSAYOS	138
4.2.1. Caracterización y selección de los antisueros	138
4.2.1.1. <i>Selección de antisueros para sulfonamidas</i>	138

	Pag.
4.2.1.2. <i>Selección de antisueros para tetraciclinas</i>	140
4.2.2. ELISAs competitivos para sulfonamidas	141
4.2.2.1. <i>Optimización y estudio de la selectividad de los ensayos</i>	145
4.2.2.2. <i>Ensayos para STZ</i>	145
4.2.2.3. <i>Ensayo para SSZ</i>	151
4.2.2.4. <i>ELISAs Genérico I</i>	154
4.2.3. ELISAs competitivos para tetraciclinas	159
4.2.3.1. <i>Optimización y estudio de la selectividad de los ensayos</i>	159
4.2.3.2. <i>Ensayo para TCs</i>	160
4.2.3.3. <i>Ensayo para CTC</i>	164
4.2.4. Análisis de muestras	167
4.2.4.1. <i>Ensayo para STZ</i>	167
4.2.4.2. <i>Ensayo para SSZ</i>	169
4.2.4.3. <i>ELISA Genérico I</i>	175
4.2.4.4. <i>Ensayo para TCs</i>	181
5. CONCLUSIONES	185
6. BIBLIOGRAFÍA	191
APÉNDICE I: ESPECTROS RMN, IR Y MS	215
APÉNDICE II: PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTA TESIS DOCTORAL	247
APÉNDICE III: PUBLICACIONES BASADAS EN INMUNORREACTIVOS DESARROLLADOS EN ESTA TESIS DOCTORAL	251