
TRAZABILIDAD DE LA CARNE DE BOVINO: CONCEPTOS, ASPECTOS TECNOLÓGICOS Y PERSPECTIVAS PARA MÉXICO

ROBERTO RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, AARÓN F. GONZÁLEZ-CÓRDOVA, ANA ARANA, ARMIDA SÁNCHEZ-ESCALANTE y BELINDA VALLEJO-CORDOBA

RESUMEN

La trazabilidad de la carne de bovino es de gran importancia para la seguridad alimentaria, ya que garantiza su identidad y rastreabilidad desde el origen hasta la comercialización. La trazabilidad comienza con la identificación de los animales; sin embargo, los marcadores clásicos, aunque necesarios, son removidos durante el sacrificio. Por otro lado, los métodos que utilizan marcadores moleculares, basados en el perfil del ADN, son permanentes y únicos. Por ello, en un sistema de trazabilidad para

la carne es conveniente que ambos métodos se complementen para asegurar el seguimiento del producto en toda la cadena productiva. En esta revisión se plantea un panorama general de conceptos y aspectos tecnológicos de la trazabilidad de la carne de bovino, se describen los principales métodos utilizados para la trazabilidad, incluyendo la selección y evaluación de marcadores moleculares, y se presentan las perspectivas de la trazabilidad en diferentes países, enfatizando el caso de México.

Las distintas crisis relacionadas con alimentos ocurridas en las últimas dos décadas han despertado una preocupación generalizada en las condiciones de producción y comercialización de los alimentos. En el caso particular de la carne (Pettitt, 2001; Felmer *et al.*, 2006), la posible vinculación de enfermedades fatales en el hombre como la encefalopatía espongiiforme bovina (EEB), también conocida como “mal de las vacas locas”, la encefalopatía espongiiforme ovina (*scrapie* por sus siglas en inglés), la fiebre aftosa (bovinos, porcinos, caprinos y ovinos), la peste porcina clásica

(PPC), y en fechas recientes la influenza porcina, han generado la mayor crisis de desconfianza registrada en la historia de la industria cárnica. Aunado a esto, dichas crisis podrían ser intensificadas debido a la presencia de residuos de sustancias peligrosas en los productos cárnicos, tales como hormonas y agentes anabolizantes (Estrada-Montoya *et al.*, 2008), antibióticos (Sofos, 2008) y pesticidas (Sallam y Ali Morshegy, 2008), entre otros. Debido a la facilidad con la que estos problemas se han diseminado entre países, y a la complejidad para establecer sistemas de control y/o prevención (Pettitt, 2001; Felmer *et al.*, 2006), se ha

generado una gran alarma en los consumidores que esperan obtener productos de calidad e inocuos para la salud.

De las experiencias adquiridas a partir de los brotes de EEB en la Unión Europea (UE) y en los EEUU en 1986 y 2003, respectivamente; así como de la detección de *E. coli* cepa O157:H7 entero-hemorrágica en carne molida en los EEUU en 1982 (Sofos, 2008), solo por citar algunos ejemplos, se evidenció la imperiosa necesidad de establecer procedimientos de identificación y seguimiento individual de los animales destinados al consumo humano, para así rastrear este tipo de

PALABRAS CLAVE / ADN / Huella Genética / Identificación Animal / Marcadores Moleculares / Trazabilidad /

Recibido: 21/01/2010. Modificado: 18/09/2010. Aceptado: 20/09/2010.

Roberto Rodríguez Ramírez. Químico Biólogo en Tecnología de Alimentos, Universidad de Sonora, México. Maestro en Ciencia y Candidato a Doctor en Ciencias, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), México.

Aarón Fernando González-Córdova. Ingeniero Bioquímico en Alimentos, Instituto Tecnológico de Monterrey, México. Candidato a Doctor en Ciencias en Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz, México. Profesor Investigador, CIAD, México.

María Arana Navarro. Doctora en Genética y Mejora Animal, Universidad de Zaragoza, España. Catedrática, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra, España.

Armida Sánchez-Escalante. Química Bióloga en Tecnología de Alimentos, Universidad de Sonora, México. Doctora en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Zaragoza, España. Maestra en Ciencias, CIAD, México. Profesora Investigadora, CIAD, México.

Belinda Vallejo-Cordoba. Química, Universidad Iberoamericana, México. Doctora en Ciencia de los Alimentos, University of British Columbia, Canadá. Profesora Investigadora, CIAD, México. Dirección: Laboratorio de Calidad, Autenticidad y Trazabilidad de los Alimentos, CIAD. Carretera a La Victoria Km. 0.6; Apartado 1735, Hermosillo, Sonora, 83000, México. e mail: vallejo@ciad.mx

incidentes en la cadena de producción de alimentos. Para ello, las autoridades gubernamentales requieren de sistemas eficientes que les permitan identificar rápidamente y de forma confiable el origen de los alimentos implicados o sospechosos.

Estos procedimientos deben ser realizados mediante la aplicación de nuevas tecnologías adaptadas para dar respuestas en tiempos cortos, acordes a la modernización y globalización de los intercambios comerciales actuales. Lo anterior ha traído como consecuencia que hoy en día el término “trazabilidad” sea parte del lenguaje común en la cadena de producción, industrialización y comercialización de los alimentos (Felmer *et al.*, 2006).

Aunado a lo anterior, actualmente los consumidores están prestando mayor atención a los aspectos de inocuidad al momento de seleccionar o adquirir sus alimentos. De aquí que poder conocer la procedencia u origen de estos, sea relevante. Asimismo, la trazabilidad es indispensable para la comercialización de alimentos con valor añadido, como los que ostentan denominación de origen, identificación geográfica de procedencia o marcas de calidad diferenciada (Arana *et al.*, 2002; Dalvit *et al.*, 2007).

Trazabilidad alimentaria

De acuerdo con la UE (European Commission, 2002), la trazabilidad o rastreabilidad se define como la posibilidad de encontrar y seguir el rastro, a través de todas las etapas de producción, transformación y distribución, de un alimento, pienso, animal destinado a la producción de alimentos o una sustancia, destinada a ser incorporada en alimentos o piensos, o con probabilidad de serlo.

De forma general, la trazabilidad es un conjunto de acciones, medidas y procedimientos técnicos que permiten identificar y registrar cada alimento, desde su origen hasta el final de la cadena de comercialización. Así la trazabilidad faculta rastrear la cadena de producción y otorga a los productores la posibilidad de colocar sus productos en mercados más rentables, que exigen la certeza del origen y de las distintas etapas del proceso productivo (Felmer *et al.*, 2006; Yordanov y Angelova, 2006). Todo esto indica que las empresas deben disponer de un sistema de gestión de calidad documentada que permita identificar y realizar un seguimiento de los productos que entran, permanecen y salen de la empresa, de una manera ágil, rápida y eficaz, con la finalidad de que ante una crisis, puedan tomarse las medidas necesarias; para dar respuesta, la empresa alimentaria dispone de una herramienta que es su sistema de trazabilidad.

Importancia de los sistemas de trazabilidad

Un buen sistema de trazabilidad no solo es importante para la seguridad alimentaria y para la protección de la salud de los consumidores, sino que adicionalmente aporta beneficios a la industria procesadora que lo aplica. Es decir, sirve como un instrumento para lograr un elevado grado de protección de la vida y la salud de los consumidores y facilita, dentro de la empresa, el control de procesos y los sistemas de gestión de calidad. Finalmente, brinda una oportunidad comercial para la diferenciación de productos por calidad asociada a marcas y/o denominaciones de origen (valor añadido) frente a los competidores (Arana *et al.*, 2002; Dalvit *et al.*, 2007).

Orígenes de la trazabilidad

En la década de los noventa, la trazabilidad surgió por primera vez en la Unión Europea con el objetivo principal de otorgar certeza y seguridad a los consumidores ante los problemas causados, fundamentalmente, por la aparición de la EEB. Si bien la trazabilidad como un nuevo concepto de seguridad, surgió con mayor fuerza a partir de esta crisis, ya existían desde 1994, en el Reino Unido, sistemas de aseguramiento de calidad cuyo objetivo era el de certificar que la carne producida en dicho país, se obtuviera bajo condiciones seguras, resguardando el bienestar animal y la protección del medio ambiente (Schwäglele, 2005).

En los EEUU, la trazabilidad surgió ante la necesidad de promocionar el consumo de carnes rojas, que había perdido terreno en los últimos años ante las crisis presentadas, y esto se hizo mediante la certificación de procesos de producción (Smith *et al.*, 2005). En México, el interés se ha centrado en proteger la credibilidad hasta ahora ganada, frente a los compradores externos de carne de bovino.

Normatividad y legislación de la trazabilidad para bovinos en la UE

Para lograr incrementar la transparencia de las condiciones de producción y comercialización de la carne de bovino en la UE fue necesario aplicar y cumplir irrestrictamente las normas en materia de identificación de animales destinados al consumo humano. La revisión de las directivas de la UE realizada en 1997 estableció que cada uno de los países miembros de la Unión debería identificar individualmente a los animales por medio de aretes, así como llevar registros de las exportaciones, por medio del uso de pasaportes individuales

(European Commission, 1997). A partir de esta fecha también se estableció que los países miembros desarrollarían bases de datos con la información individualizada de los animales cuyo destino final fuera el consumo. Además, se adoptaron nuevas disposiciones relativas a la obligatoriedad de etiquetar y rastrear la carne (Reglamento EC/1760/2000) a lo largo de toda su cadena de distribución. Estas acciones tuvieron como objetivo primordial, recuperar la confianza de los consumidores por el consumo de carne y sus derivados (European Commission, 2000).

En el 2000, el llamado “Libro Blanco” sobre la seguridad alimentaria de la Comisión Europea fue revisado. Derivado de esta revisión se concretaron los principios que regirían a la legislación alimentaria de la UE, para lograr elevados niveles de seguridad y la protección que los consumidores requerían (EC/178/2002; European Commission, 2002). El Libro Blanco propuso un enfoque integral abarcando, “desde la granja hasta el consumidor”, considerando que la seguridad de los alimentos comienza por los animales y los alimentos que estos consumen. También se consideró la necesidad de establecer sistemas de trazabilidad que incluyeran la identificación de animales como uno de los requisitos principales (Felmer *et al.*, 2006; Dalvit *et al.*, 2007).

En el Reglamento 1760/2000 de la UE (European Commission, 2000) se estableció un sistema para la identificación y registro de los bovinos, y para el etiquetado de la carne de éstos y sus productos derivados. En este sistema se exigió que todo el ganado bovino y carnes frescas o congeladas derivadas fueran etiquetados con un código de referencia que vinculara la carne con los animales de origen, el país de sacrificio y de procesamiento (sacrificio y/o despiece), así como los números de aprobación de los rastros y plantas de procesamiento (Felmer *et al.*, 2006; Dalvit *et al.*, 2007). El artículo 3 del EC/1760/2000 establece que un sistema de identificación y registro de bovinos debe contar con los siguientes elementos: a) aretes o crotales para identificar a los animales individualmente; b) una base de datos computarizada; c) pasaportes para los animales; y d) registros individuales de cada operación (European Commission, 2000).

En enero de 2002 se publicó el reglamento 178/2002, mediante el cual la UE estableció los principios y requisitos generales de la legislación alimentaria, y dio lugar a la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Commission, 2002). En ese mismo año entró en vigencia la segunda fase de esta normativa, la cual exigía que el etiquetado proporcionara información del país de nacimiento

del animal y de los lugares por los que este hubiera transitado. Además, se exigieron registros actualizados de: vacunas, alimentación y enfermedades, entre otros.

Aunque originalmente la legislación europea se enfocó solo al ganado bovino, actualmente se está prestando atención a otro tipo de animales de consumo como ovejas y cabras, así como a otros sistemas alimentarios a los que es necesario dar seguimiento bajo un esquema de trazabilidad alimentaria (European Commission, 2002). Cabe señalar que a partir de enero del 2005 y de acuerdo a la legislación contenida en el Libro Blanco de la Seguridad Alimentaria, la trazabilidad es de observancia obligatoria para la Unión Europea (Schwägele, 2005; Dalvit *et al.*, 2007).

La trazabilidad de la carne de bovino en un contexto internacional

La mayoría de países que exportan ganado bovino han adoptado un sistema de trazabilidad en respuesta, sobre todo, a las exigentes normas impuestas por la UE y Japón (Dalvit *et al.*, 2007) para la importación de cortes de res. Así, la cadena bovinos-carne ha sido el principal eje de las acciones de trazabilidad propiciadas por el intercambio comercial entre diferentes países (Smith *et al.*, 2005). De esta manera, no solamente la UE ha establecido sistemas de trazabilidad para sus alimentos, sino que también otros países han implementado sistemas de trazabilidad empezando con la identificación de animales destinados al consumo.

Australia inició trabajos en trazabilidad en 1999, con un sistema de cumplimiento voluntario que incluyó el uso de aretes para la identificación de ganado, etiquetas con códigos de barras para los animales sacrificados, así como la recolección de muestras de sangre de estos animales para obtener su huella genética a partir del ADN. Los resultados del análisis de las huellas de ADN fueron pieza fundamental para establecer la capacidad de rastreo e identificación de los animales destinados al consumo, con el enfoque global “de la granja a la mesa” (Smith y Saunders, 2005). Actualmente, la trazabilidad para bovinos desde el nacimiento hasta el sacrificio, es de carácter obligatorio en Australia.

En Canadá se establecieron sistemas de trazabilidad basados en la identificación de los animales por medio de registros electrónicos y manuales. Hoy en día la trazabilidad solo es obligatoria para la provincia de Quebec. Para países como Uruguay, Brasil, Argentina, Chile y México, donde el mercado de exportación de carne de bovino es importante, la trazabilidad es obligatoria hasta el sacrificio de

los animales, mientras que para los EEUU, la trazabilidad es de carácter voluntario (Smith *et al.*, 2005).

Por otro lado, en países del continente asiático como Japón y Corea, los sistemas de trazabilidad para la carne de bovino son muy estrictos, e incluyen el análisis del ADN para corroborar el rastreo del producto. En Japón se utiliza la identificación genética con muestras de ADN para confirmar la información de las bases de datos. En Corea enfatizan la “transparencia de la trazabilidad” también usando pruebas basadas en el ADN y con la instalación de kioscos electrónicos en los supermercados, que permiten a los consumidores utilizar computadoras en las cuales pueden ingresar el código de barras del paquete del corte de carne, para conocer toda la información relacionada con el programa de trazabilidad (Smith y Saunders, 2005).

Importancia de establecer sistemas de trazabilidad en México

El sector bovinos-carne de México genera anualmente alrededor de $1,5 \times 10^6$ ton de carne, con las que se abastece el mercado interno y se cumple con los compromisos de exportación. A nivel nacional, los cinco principales estados productores de carne de bovino (58,7% del total de la producción) son Veracruz, Jalisco, Chiapas, Sonora y Chihuahua (Luna Martínez y Albarrán Díaz, 2006). De éstos, el estado de Sonora se distingue por la calidad de sus cortes de carne, calidad que es inspeccionada y avalada por la Comisión Estatal de la Carne (CEC), organismo del gobierno del estado.

Por otro lado, al estar México inmerso en un mercado globalizado, no está excluido de las nuevas tendencias internacionales, ni de las preferencias de los consumidores e incluso de las alternativas de producción que tendrán que ir desarrollándose en mayor volumen. Ejemplos de estos son la producción con trazabilidad o rastreabilidad, que den certeza de calidad e información al consumidor (Luna Martínez y Albarrán Díaz, 2006).

Desde el año 2004, las exportaciones de carne mexicana a Japón se incrementaron en ~300% (SAGARPA, 2006a), debido a que ese año, como hasta hoy, la carne de México está libre de fiebre aftosa y de encefalopatía espongiforme bovina (EEB), enfermedades que han afectado a los hatos ganaderos de otros países (SAGARPA, 2006b). La carne mexicana ha alcanzado un posicionamiento importante en los países asiáticos, gracias a su calidad e inocuidad. Sin embargo, no hay que perder de vista que dichos países verifican la trazabilidad genética de la carne por medio del análisis del ADN, por lo que la carne

proveniente de otros países, entre ellos la de México, podría ser sometida, en el corto plazo, al mismo requerimiento.

Ante este escenario de apertura comercial globalizado, en el 2003, el gobierno de México inició el Sistema Nacional de Identificación Individual de Ganado (SINIIGA), el cual establece que la identificación del ganado se realizará mediante la colocación de aretes que deberán permitir una identificación única y permanente del animal a lo largo de toda su vida (www.sagarpa.gob.mx). El objetivo del SINIIGA fue establecer la identificación individual y permanente del ganado en México y conformar una base de datos que permitiera tomar acciones integrales para elevar los estándares sanitarios y de competitividad de la ganadería mexicana. El SINIIGA consta de dos componentes: el componente físico que incluye la identificación individual del animal por medio de la colocación de dos aretes y el componente de información que consiste en diseñar e implementar un sistema (base de datos nacional y regional), para operar el SINIIGA. En este sistema quedan registrados los datos del productor, de la unidad de producción pecuaria (UPP) y del animal; así como las notificaciones del nacimiento, importación, ingreso o salida de un animal a una UPP por cualquier causa, además del sacrificio del animal en el rastro (www.sagarpa.gob.mx).

Aunque México cuenta con el SINIIGA, durante el sacrificio del animal y su posterior despiece, la capacidad de rastreo se pierde, por lo que es necesario que además se implemente un sistema de trazabilidad que verifique la identidad del animal y de los productos hasta llegar al consumidor. En particular, un sistema de trazabilidad verificable con la huella genética podría ser una buena alternativa para empresas mexicanas exportadoras de carne que cuentan con un esquema de comercialización integrado. La trazabilidad respaldada por el código basado en el ADN o huella genética para identificar al animal y sus productos, permitiría la trazabilidad con una mayor exactitud (Smith y Saunders, 2005).

Tecnologías para trazabilidad e identificación de ganado

Uno de los principales requisitos en la trazabilidad de bovinos es la implementación de un sistema que permita su identificación. Si bien existe una gran variedad de métodos para la identificación de animales y sus derivados, en términos generales estos métodos se han clasificado en: no biométricos o clásicos, y biométricos. Entre los métodos no biométricos se encuentran los tatuajes, crotales o aretes, y los dispositivos electrónicos (Felmer *et al.*, 2006).

Entre los marcadores biométricos se encuentran la huella nasal, las imágenes digitales de iris/retina y el análisis de ADN, conocido como huella genética (DNA *fingerprinting*). Estos métodos se han considerado como una solución no invasiva para la identificación individual de animales (Felmer *et al.*, 2006). El principio de la identificación animal a través de la huella genética del ADN se basa en que, a excepción de los gemelos monocigotos y de los clones, todos los individuos de una población animal difieren entre sí a nivel de su ADN. De esta manera es posible utilizar marcadores genéticos moleculares, para establecer dichas diferencias o polimorfismos (Cunningham y Meghen, 2001; Schwägele, 2005).

Trazabilidad de la carne de bovino

La trazabilidad de la carne consiste en darle seguimiento durante toda la cadena productiva, es decir, desde el nacimiento del animal en la granja, hasta su venta al detalle en los puntos de venta (Pettitt, 2001; Dalvit *et al.*, 2007). En todo este proceso se debe asegurar la identidad y calidad del producto. Así, ante cualquier problema o conflicto de identidad, debe ser posible rastrear el origen. Algunos de los métodos de trazabilidad clásicos, como aretes o crotales, y algunos otros, no son suficientes debido a que pueden ser removidos o alterados durante el sacrificio y despiece de los animales. Para evitar este inconveniente, en varios países se están desarrollando métodos de respaldo que puedan asegurar totalmente la trazabilidad (Smith y Saunders, 2005). Uno de estos métodos de respaldo es la denominada trazabilidad genética o molecular, la cual se basa específicamente en el estudio de marcadores moleculares del ADN (Stanford *et al.*, 2001; Schwägele, 2005).

Trazabilidad genética por marcadores moleculares

Los marcadores moleculares son fragmentos de ADN que sirven de referencia para seguir la transmisión de la información genética, de una generación a otra. En el sentido más estricto, un marcador molecular es una entidad genética que manifiesta polimorfismo (variabilidad en la composición de su ADN). El interés por detectar variaciones genéticas para diversas aplicaciones ha conducido al incremento en el tipo y número de marcadores disponibles para el análisis del ADN (Cañon y Dunner, 2003).

Los tipos de marcadores moleculares que se han utilizado son: RAPD (de *random amplification of polymorphic DNA*) o polimorfismos de ADN

amplificados al azar, RFLP (de *restriction fragment length polymorphisms*) o polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción, AFLP (de *amplified fragment length polymorphism*) o polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados, STR (de *short tandem repeat*) o microsatélites y SNP (de *single nucleotide polymorphism*) o polimorfismos de un solo nucleótido (Buntjer *et al.*, 2002; Ratón, 2004; Mburu y Hanotte, 2005).

Aunque existen diferentes marcadores moleculares disponibles que podrían hacer posible la trazabilidad de la carne de bovino, la necesidad de conjugar eficacia biológica y económica restringe el tipo de marcadores a solo dos: los STR o microsatélites y los SNP o polimorfismos de un solo nucleótido. Estos últimos presentan un futuro muy promisorio, aunque por ahora los microsatélites han sido los marcadores de elección (Cunningham y Meghen, 2001; Cañon y Dunner, 2003).

Los microsatélites fueron identificados en 1989, al descubrirse que existían zonas del ADN no codificante (que no contiene información para producir una proteína) que contenían repeticiones de: di, tri, o tetranucleótidos (de adenina (A), guanina (G), citocina (C), timina (T) componentes del ADN) en un número variable de veces (entre 10 y 20 en promedio). Debido a esto, los microsatélites se llamaron inicialmente VNTR (de *variable number of tandem repeats*), porque la unidad repetible está presente un número variable de veces. Sin embargo, el término VNTR también incluía los minisatélites cuya unidad de repetición es más larga (de 100 a varios cientos de nucleótidos). La nomenclatura terminó dejando el término microsatélites o STR para los más cortos, y minisatélites o VNTR para el resto. (Cunningham y Meghen, 2001; Cañon y Dunner, 2003; Mburu y Hanotte, 2005).

En la actualidad, los microsatélites son considerados como la herramienta más poderosa de discriminación genética entre animales, por lo que la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG, por sus siglas en inglés) ha recopilado y recomendado a aquellos microsatélites que proporcionan la mayor información y que sirven como marcadores estándares para la comparación entre distintas razas bovinas (Orru *et al.*, 2006; Sifuentes Rincón *et al.*, 2006; Riojas *et al.*, 2006).

La técnica para discriminar entre animales se basa en la amplificación del ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, de *polymerase chain reaction*) de las regiones que contiene las secuencias repetidas de interés. Así, el polimorfismo o las diferencias del ADN son observadas por medio del tamaño de los productos que fue-

ron obtenidos por PCR después de su separación en geles o en sistemas automatizados, como es el caso de los secuenciadores para ADN (Mburu y Hanotte, 2005).

Por otra parte, los SNP son producidos por un cambio único de los nucleótidos que componen el ADN (A, G, C, T) en un individuo. Aunque proveen menos información que los microsatélites, los SNP tienen la ventaja de presentar menos mutaciones o cambios, ya que son genéticamente estables y muy fácilmente adaptables para el análisis automatizado con secuenciadores (Cañon y Dunner, 2003). Otra ventaja es que facilitan y agilizan su detección con el uso de nuevas tecnologías para el análisis del ADN (microarreglos o microchips) que permiten una gran cantidad de reacciones diarias, con costos relativamente bajos (Cunningham y Meghen, 2001; Mburu y Hanotte, 2005; Yordanov y Angelova, 2006).

Sistema de trazabilidad integral para carne de bovino

En la práctica, un sistema de trazabilidad integral funciona de la siguiente forma: cada vez que un animal es sacrificado, se colecta una muestra biológica del animal antes de que se pierda la identidad del mismo (por ejemplo, antes de la pérdida de los crotales) y se guarda con la identificación completa como muestra de referencia. Las muestras de referencia pueden ser sangre, semen, carne/tejido o pelo. Esta muestra se almacena por un período no inferior a la "vida útil" del producto, y después de este período la muestra puede ser descartada. Posteriormente, en el caso de que sea necesario establecer el origen del producto en cualquier punto de la cadena, se toma la muestra (problema) para obtener la huella genética del ADN, y este perfil se compara con la muestra o muestras de referencia, para determinar si ambas huellas genéticas son idénticas o no. Si las huellas son diferentes, esto significa que la muestra problema analizada no proviene del animal con el que fue comparado (Cunningham y Meghen, 2001). De hecho de esta manera se puede comprobar si una muestra de carne que viene de un supuesto animal es en realidad de este y no de un sustituto, comparándola con la muestra de referencia" favor de cambiar por "De tal manera que se puede comprobar si una muestra de carne que viene de un supuesto animal es en realidad de este y no de un sustituto, cuando se comprara con la muestra de referencia. De cualquier manera, el sistema requiere de trazabilidad documentada, es decir, conocer al menos los posibles lotes o procesadores y las fechas para las muestras de referencia y las muestras problema. En algunos casos, el etiquetado po-

dría indicar de qué animal proviene la muestra de carne, por lo que solo se compararía con las muestras de referencia correspondientes.

En general, hay tres posibilidades cuando se hace una prueba de identificación (probabilidad de correspondencia) para la carne: i) que la huella genética de la muestra problema no resulte igual a las huellas genéticas de las muestras de referencia, ii) que la huella genética de la muestra problema corresponda a una de las huellas genéticas de las muestras de referencia o iii) que la huella genética de la muestra problema corresponda a la huella genética de más de una de las muestras de referencia. Si la muestra problema solo es igual a una muestra de referencia, se puede decir que es del mismo individuo; sin embargo, si es igual a más de una muestra de referencia, esto significa que es necesario seleccionar nuevos marcadores moleculares con mejor poder de discriminación (Shackell y Dodds, 2008). Sin embargo, el grupo de marcadores adecuado dependerá de la raza de los animales y del tamaño de la población (Orru *et al.*, 2006).

Por lo anterior y a fin de simplificar los sistemas de trazabilidad y disminuir los costos de análisis para la trazabilidad genética, se han llevado a cabo diferentes investigaciones basadas en la evaluación y selección de diferentes marcadores moleculares. Orru *et al.* (2006) evaluaron 13 microsatélites, nueve de ellos recomendados por la ISAG, para realizar pruebas de trazabilidad molecular en carne de bovino de cuatro razas italianas de ganado. Los autores implementaron PCR múltiples para disminuir los costos de análisis. Los microsatélites analizados presentaron diferentes grados de polimorfismo entre las diferentes razas, ya que estas presentaron diferentes estructuras genéticas.

Algunos otros estudios de trazabilidad molecular han sido realizados con la finalidad de certificar cortes de carne de acuerdo a su origen o procedencia geográfica. Por ejemplo, el caso de la "ternera de Navarra", carne fresca procedente de terneros de las razas Pirenaica, Blonde de Aquitania, Parda Alpina, Charolais, y sus cruza, que son nacidos, criados y sacrificados en la región de Navarra, España. Arana *et al.* (2002) evaluaron 10 microsatélites para garantizar que los cortes comercializados bajo esta denominación, realmente correspondieran a las razas permitidas para la denominación "ternera de Navarra".

Bicalho *et al.* (2006) realizaron un estudio utilizando nueve microsatélites de los recomendados por el ISAG, para evaluar la estimación ancestral de la raza Girollo, entre las razas Gir y Holstein, las cuales derivan de entrecruzamiento entre *Bos Taurus* y *Bos Indicus*. Los autores

podieron estimar, dentro de un estrecho límite, la proporción ancestral de las razas Holstein y Gir, en individuos de la raza Girollo. Además, sugirieron que estos microsatélites podrían ser utilizados para estimar las proporciones de origen de las razas *B. Taurus* y *B. Indicus* en productos cárnicos comerciales.

Otra aplicación de los microsatélites ha sido su utilización para la trazabilidad en mezclas de carne de diferentes animales o carne molida. Shackell *et al.* (2005) emplearon un método basado en microsatélites para la detección de mezclas de carne en diferentes lotes. Sus hallazgos mostraron que fue posible identificar las proporciones de la carne de cada animal cuando ésta es mezclada tanto en cantidades iguales como en proporciones distintas. Sin embargo, la utilización de este método estuvo limitada a lotes de carne molida proveniente de no más de diez animales.

Dalvit *et al.* (2008) evaluaron la utilización de 12 microsatélites para la trazabilidad en seis razas de ganado bovino de una región de Italia. Así, reportaron que la probabilidad de correspondencia entre dos individuos no emparentados (compartir la misma huella genética) fue de cinco en un millón. Sin embargo, consideraron que utilizar 12 microsatélites elevaba el costo del análisis.

De acuerdo a lo anterior, los métodos para la trazabilidad genética en la identificación de animales en forma individual (obtención de huella genética) utilizan principalmente microsatélites. Los puntos focales de estos métodos de trazabilidad han sido el de tratar de minimizar el número de microsatélites o utilizarlos en conjunto (PCR múltiple) para tratar de reducir el costo por análisis, así como la selección de un buen método de muestreo que sea práctico en la industria cárnica (Arana *et al.*, 2002; Shackell *et al.*, 2005).

En el estudio de Negrini *et al.* (2008) fueron utilizados 90 SNPs para clasificar 24 razas diferentes de ganado europeo. El uso de los SNPs junto con estadística Bayesiana permitió clasificar a los individuos en diferentes grupos conformados por las diferentes razas. Sin embargo, los autores concluyeron que es necesario contar con un grupo suficiente de individuos como referencia, para conformar la información completa. De manera similar, Orru *et al.* (2008) probaron 63 SNPs en seis razas de ganado europeo, de los cuales seleccionaron 18. Con este conjunto de 18 marcadores fue posible corroborar la procedencia de muestras de carne en el comercio, con los animales sacrificados. Sin embargo, la principal limitante para que los SNP sean implementados en los laboratorios de control continua siendo el costo del análisis (Negrini *et al.*, 2008).

Conclusiones

Un sistema de trazabilidad para carne de bovino debe ser verificable por medio de la trazabilidad molecular. Sin embargo, la trazabilidad molecular debe estar basada en una adecuada selección de marcadores moleculares. Hasta ahora, los microsatélites han sido los marcadores más útiles para la trazabilidad de carne de bovino, y han sido evaluados y seleccionados de acuerdo al tipo de ganado bajo estudio. Como resultado de las crisis alimentarias, en la mayoría de los países se ha implementado algún tipo de sistema de trazabilidad, en algunos solo han consistido en la identificación de animales, mientras que en otros se han implementado sistemas de trazabilidad molecular como un sistema de verificación. Aquellos países que verifican la trazabilidad de la carne por medio de la huella genética tienen la ventaja de poder respaldar su sistema de trazabilidad documental en caso de una alerta alimentaria. En particular México, como exportador de carne hacia mercados muy exigentes, tendría una ventaja competitiva al verificar su sistema de identificación de animales con un sistema de trazabilidad molecular.

REFERENCIAS

- Arana A, Soret B, Lasa I, Alfonso L (2002) Meat traceability using DNA markers: application to the beef industry. *Meat Sci.* 61: 367-373
- Bicalho HMS, Pimenta CG, Mendes IKP, Pena HB, Queiroz EM, Pena SDJ (2006) Determination of ancestral proportions in synthetic bovine breeds using commonly employed microsatellite markers. *Genet. Mol. Res.* 5: 432-437
- Buntjer JB, Otsen M, Nijman IJ, Kuiper MTR, Lenstra JA (2001) Phylogeny of bovine species based on AFLP fingerprinting. *Heredity* 88: 46-51
- Cañon J, Dunner S (2003) *Técnicas de genética molecular en laboratorios de producción animal*. VIII Simposium Anual de AVEDILA. León, España. 23-24/10/2003.
- Cunningham EP, Meghen CM (2001) Biological identification systems: genetic markers. *Rev. Sci. Technol. Off. Int. Epiz.* 20: 491-499.
- Dalvit C, De Marchi M, Cassandro M (2007) Genetic traceability of livestock products: A review. *Meat Sci.* 47: 437-449.
- Dalvit C, De Marchi M, Targhetta C, Gervaso M, Cassandro M (2008) Genetic traceability of meat using microsatellites markers. *Food Res. Int.* 41: 301-307.
- Estrada-Montoya MC, González-Córdova AF, Torrescano G, Camou JP, Vallejo-Cordoba B (2008) Screening and confirmatory determination of Clenbuterol residues in bovine meat marketed in the Northwest of Mexico. *Cien. Tecnol. Alim.* 6: 130-136.
- European Commission (1997) Laying down detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) N° 820/97 as regards eartags, holding registers and passports in the framework of the system for the identification and registration of bovine animals. *Off. J. Eur. Commun.* L354: 19-22.

- European Commission (2000) Regulation EC N° 1760/2000 of the European Parliament and of the Council of 17 July 2000 establishing a system for the identification and registration of bovine animals and regarding the labelling of beef and beef products and repealing Council Regulation (EC) N° 820/97. *Off. J. Eur. Commun. L 204*: 1-10.
- European Commission (2002) Council Regulation (EC) N° 178/2002 of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. *Off. J. Eur. Commun. L31*: 1-24.
- Felmer R, Chávez R, Catrileo A, Rojas C (2006) Tecnologías actuales y emergentes para la identificación animal y su aplicación en la trazabilidad animal. *Arch. Med. Vet.* 38: 197-206.
- Luna Martínez E, Albarrán Díaz M (2006) *Situación Actual y Perspectiva de la Producción de Carne de Bovino en México*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. www.sagarpa.gob.mx
- Mburu D, Hanotte O (2005) *A practical approach to microsatellite genotyping with special reference to livestock population genetics. A manual prepared for the IAEA/ILRI training course on molecular characterisation of small ruminant genetic resources of Asia*. Oct.-Dec. 2005. ILRI. Nairobi, Kenya.
- Negrini R, Nicoloso L, Crepaldi P, Milanese E, Marino R, Perini D, Pariset L, Dunner S, Levezuel H, Williams JL, Ajmone Marsan P (2008) Traceability of four European Protected Geographic Indication (PGI) beef products using Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) and Bayesian statistics. *Meat Sci.* 8: 1212-1217.
- Orru L, Napolitano F, Catillo G, Muioli B (2006) Meat molecular traceability: How to choose the best set of microsatellites. *Meat Sci.* 72: 312-317.
- Orru L, Catillo G, Napolitano F, De Matteis G, Scata MC, Signorelli F, Muioli B (2008) Characterization of a SNPs panel for meat traceability in six cattle breeds. *Food Control* 20: 856-860
- Pettitt RG (2001) Traceability in the food animal industry and supermarket chains. *Rev. Sci. Tech.* 20: 584-597.
- Ratón TO (2004) Métodos moleculares de identificación de levaduras de interés biotecnológico. *Rev. Iberoam. Micol.* 21: 15-19.
- Riojas VVM, Gómez DFJC, Salinas MJA, Montes de Oca LR, Wong GA (2006) Confiabilidad del análisis de ADN en pruebas de paternidad para bovinos Brahman y Brangus en México. *Ciencia UANL. IX*: 41-50.
- SAGARPA (2006a) *Crecen en 300 por ciento las exportaciones de carne bovina Mexicana a Japón en 2005*. N° 084/06. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. www.sagarpa.gob.mx
- SAGARPA (2006b) *Prevén exportar este año más de 12 mil toneladas de carne de bovino en cortes finos a Japón*. N° 254/06. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. www.sagarpa.gob.mx
- Sallam KI, Morshedy AEM (2008) Organochlorine pesticide residues in camel, cattle and sheep carcasses slaughtered in Sharkia Province, Egypt. *Food Chem.* 108: 154-164.
- Schwägele F (2005) Traceability from European perspective. *Meat Sci.* 71: 164-173.
- Shackell GH, Dodds KG (2008) DNA-based traceability of meat. En Toldra F (Ed.) *Meat Biotechnology*. Springer. Nueva York, USA. pp. 61-88.
- Shackell GH, Mathias HC, Cave VM, Dodds KG (2005) Evaluation of microsatellites as a potential tool for product tracing of ground beef mixtures. *Meat Sci.* 70: 337-345.
- Sifuentes-Rincón AM, Parra BPGM, De la Rosa RXF, Sánchez VA, Serrano MF, Rosales AJ (2006) Importancia de las pruebas de paternidad basadas en microsatélites para la evaluación genética de ganado de carne en empadre múltiple. *Téc. Pec. Méx.* 44: 389-398.
- Smith GC, Saunders L (2005) International Identification, Traceability and Verification: The Key Drivers and The Impact on the Global Food Industry. International Livestock Congress Connections. *Exploring Traceability and What it Means to the Beef Industry*. 02/03/2005. Houston, TX, EEUU.
- Smith GC, Tatum JD, Belk KE, Scanga JA, Grandin T, Sofos JN (2005) Traceability from a US perspective. *Meat Sci.* 71: 174-193.
- Sofos JN (2008) Challenges to the meat safety in the 21st century. *Meat Sci.* 78: 3-13.
- Stanford K, Stitt J, Kellar JA, McAllister TA (2001) Traceability in cattle and small ruminants in Canada. *Rev Sci Tech.* 20: 510-522.
- Yordanov D, Angelova G (2006) Identification and traceability of meat and meat products. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 20: 3-8.

TRACEABILITY OF BOVINE MEAT: CONCEPTS, TECHNOLOGICAL ASPECTS AND PERSPECTIVES FOR MEXICO

Roberto Rodríguez-Ramírez, Aarón F. González-Córdova, Ana Arana, Armida Sánchez-Escalante and Belinda Vallejo-Cordoba

SUMMARY

Bovine meat traceability is of great importance as a tool for food safety since it ensures product identity and the possibility to follow it up from its origin until commercialization. Meat traceability starts with animal identification; however, traditional markers, although necessary, are removed at slaughter. On the other hand, methods that use molecular markers, based on DNA fingerprinting, are permanent and unique. Therefore, it is important that a meat traceability system combines both methods so

that the product could be traced along the production chain to ensure consumer safety in case of a food crisis. In this review, a general overview of bovine meat traceability concepts and technological aspects are presented. Also, methods used for meat traceability, including the selection and evaluation of molecular markers are discussed. Finally, the status of bovine meat traceability in different countries, with special emphasis on Mexico is addressed.

TRAÇABILIDADE DA CARNE DE BOVINO: CONCEITOS, ASPECTOS TECNOLÓGICOS E PERSPECTIVAS PARA O MÉXICO

Roberto Rodríguez-Ramírez, Aarón F. González-Córdova, Ana Arana, Armida Sánchez-Escalante e Belinda Vallejo-Cordoba

RESUMO

A traçabilidade da carne de bovino é de grande importância para a segurança alimentar, já que garante sua identidade e rastreabilidade desde a origem até a comercialização. A traçabilidade começa com a identificação dos animais; no entanto, os marcadores clássicos, ainda que necessários, são removidos durante o sacrifício. Por outro lado, os métodos que utilizam marcadores moleculares, baseados no perfil do ADN, são permanentes e únicos. Por isto, em um sistema de traçabilidade para

a carne é conveniente que ambos métodos se complementem para assegurar o acompanhamento do produto em toda a cadeia produtiva. Nesta revisão se sugere um panorama geral de conceitos e aspectos tecnológicos da traçabilidade da carne de bovino, se descrevem os principais métodos utilizados para a traçabilidade, incluindo a seleção e avaliação de marcadores moleculares, e se apresentam as perspectivas da traçabilidade em diferentes países, enfatizando o caso do México.