



## VERIFICACIÓN MEDIANTE ANALISIS DE DNA DE LA TRAZABILIDAD ELECTRONICA DE CARNE BOVINA DESDE SU ESTABLECIMIENTO A LA FAENA.

Kelly L.<sup>1</sup>; Pedemonte A.<sup>2</sup>; Solares E.<sup>1</sup>; Cardozo O<sup>1</sup>; Aguerre V<sup>1</sup>.; Capdevielle F<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> INIA-LB; <sup>2</sup> Facultad de Veterinaria.

### RESUMEN

El Uruguay exporta más del 75% de faena anualmente, debiendo adaptarse a los requerimientos de diferentes mercados internacionales. El MGAP ha comenzado a implementar un sistema de identificación electrónica (chips) con el fin de realizar un seguimiento del animal desde su nacimiento hasta los productos derivados de su faena y comercialización permitiendo asegurar al consumidor el origen de los mismos. El objetivo de este trabajo es demostrar la aplicación de técnicas de tipificación de DNA para verificar la identidad de muestras dentro del sistema de identificación y registro con chips, a través de la comparación de los genotipos de las diferentes muestras obtenidas en origen (pelo), y aquellas obtenidas en la segunda balanza (músculo) durante la faena. Se tipificaron 9 microsatélites mediante PCR-multiplex y análisis de fragmentos en un secuenciador ABI310. Se analizaron 6 bovinos de un rodeo de 40. El resultado entre las muestras de pelo y músculo fue coincidente en el 100 % de los casos, por lo tanto no se detectaron errores en la identificación animal y carcasa correspondiente. Se concluye que el análisis de ADN permitiría auditar los sistemas de identificación electrónica que se están implementando en Uruguay, pudiendo incorporarse como un componente en servicios tecnológicos que contribuyan a consolidar un certificado de calidad para nuestras carnes bovinas.

### SUMMARY

Uruguay exports more than 75% of the annual meat production to international markets with particular specifications. MGAP (Ministry of Livestock, Agriculture, and Fisheries) has started implementation of an electronic identification system based on chips, in order to provide consumers with information tracing meat from its animal origins and through-out the commercialization chain. The objective of this experiment was to verify this trace system by comparison of genotypes from individual animal samples (hair) at the original location with meat samples from the second scale at the slaughter. Six individual animals from a herd of 40 were genotyped. 9 STRs were scored using PCR-multiplex and DNA fragment analysis with an ABI 310 Sequencer. Genotype results from hair and meat samples showed 100% of coincidence, with no identity discrepancies between samples traced-back to the same animal. It is concluded that DNA typing would be a valuable support to

endorse the electronic traceability system implemented in Uruguay, as a component of technological services focused on quality certification of uruguayan bovine meat.

### INTRODUCCIÓN

La importancia de la carne bovina en la economía del Uruguay (Fonseca, 2005) demanda prevenir problemas sanitarios (Fiebre Aftosa, etc.) y también adecuarse a requerimientos de calidad establecidos por diferentes mercados. En particular, la Unión Europea ha puesto en marcha un programa de trazabilidad -a partir de problemas detectados en el caso de la Encefalopatía Espongiforme Bovina- con la finalidad de recuperar la confianza de los consumidores respecto a distintos productos cárnicos, lo que generó cada vez mayores exigencias respecto a los países proveedores para que implementen programas similares (Arias, 2005). Para complementar con los requisitos de asegurar su calidad, deben estar implicados todos los actores que integran la cadena cárnica, desde el productor hasta el consumidor. La trazabilidad, según la norma I.S.O. 8402 (Thomas, 2005), implica el seguimiento del animal desde su nacimiento hasta los productos derivados de la faena del mismo, la comercialización y puesto a disposición del consumidor, lo que permite determinar los antecedentes, la localización de una entidad, mediante identificaciones registradas. En el 2002 el MGAP del Uruguay promovió un Sistema Nacional de Información Ganadera (SNIG) para consolidar y optimizar el sistema de trazabilidad grupal e iniciar una fase piloto individual a través de caravanas electrónicas; siendo uno de los primeros países del mundo al contar con esta tecnología y acceder a mercados como la Unión Europea (Piperno y Oliveira, 2005). Considerando este importante avance realizado por el M.G.A.P. para impulsar la trazabilidad de la carne uruguaya, sería apropiado disponer de información sobre técnicas de tipificación de ADN aplicadas en una muestra de los animales incorporados al sistema (aprox. 10 %), a los efectos de verificar el origen de los mismos, determinar puntos de riesgo que puedan afectar la trazabilidad por chips -especialmente durante la pérdida de la identificación del animal en el frigorífico- y posteriormente permitir el seguimiento de los cortes. La trazabilidad mediante DNA se realiza mediante marcadores moleculares denominados microsatélites y ofrece una probabilidad cercana al 100% de identificación de animales y de cualquier tipo de muestra con células nucleadas. Estas técnicas son estandarizadas bianualmente por la Sociedad Interna-



cional de Genética Animal (Kelly y col., 2005). Por lo tanto nuestro objetivo es demostrar la aplicación de una tecnología de tipificación del ADN bovino que permite auditar y avalar la trazabilidad realizada por métodos con Chips, a través de la comparación de muestras originadas en los animales vivos respecto a las obtenidas posteriormente a su faena.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra utilizada esta constituida por 6 terneras, cruza Hereford, las mismas pertenecen a un rodeo experimental de 40 animales, manejados en INIA Las Brujas en el marco de un convenio entre INIA y la CNFR. La muestra de del establecimiento de origen, identificada con el N° de chips, fue pelo con folículo piloso arrancado del mechón de la cola. En el frigorífico se extrajeron muestras del músculo del cuello luego de pasar la segunda balanza y a cada media carcasa por separado. La extracción de DNA se realizó con la técnica de proteína K. La tipificación de DNA se realizó en la unidad de Biotecnología del INIA Las Brujas, utilizando 9 microsatélites recomendados por el ISAG: BM1824, BM2113, INRA023, ETH225, ETH10, SPS115, TGLA122, TGLA227, TGLA126. Se amplificaron con un múltiplex desarrollado en el INIA, cuyos cebadores están marcados con fluorocromos. La mezcla contiene los siguientes reactivos: Buffer de PCR, dNTPs (Fermentas®), HotStar DNA polimerasa (Fermentas®) y una mezcla de diferentes concentraciones de los 18 cebadores (F: Forward, R: Reverse). La separación de fragmentos amplificados se realizó en un secuenciador ABI 310 (Applied Biosystems,

Foster city, Ca USA), siendo analizados por los programas GeneScan y Genotyper (Applied Biosystems, Foster city, Ca USA) e interpretándose con un control de referencia de la I.S.A.G (4143). Luego se compararon las tipificaciones de DNA (pelo y músculo) de cada animal y se calculó el porcentaje de coincidencia entre los genotipos. Se hizo un seguimiento con la información del chip correspondiente y el número ordinal generado por el frigorífico luego de la segunda balanza y se compararon con la muestra extraída.

## RESULTADOS Y CONCLUSIÓN.

El cuadro 1 muestra que la identidad de cada animal es única teniendo en cuenta los alelos de los 9 STR, ya que ningún individuo tiene el mismo genotipo. Además se verificó un 100% de coincidencia entre las tres muestras analizadas: la de origen (pelo) y las de frigorífico (A y B) para cada caso. Por lo tanto las etapas de transporte y faena analizadas no han afectado el resultado esperado de la trazabilidad aplicada a estos animales. Al ser única la identidad de cada animal establecida mediante tipificación del ADN (fig. 1), permite detectar cualquier tipo de cambios durante el transporte o dentro del frigorífico, permitiendo analizar los puntos de riesgo, así como auditar cualquier caso particular donde se requiera verificar el sistema de trazabilidad aplicado.

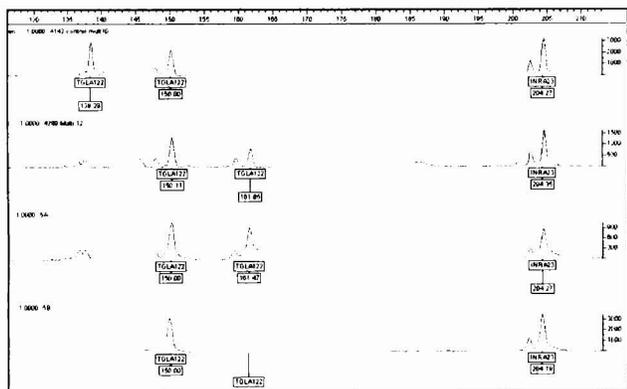
Se concluye que la aplicación de técnicas de tipificación de DNA sobre un porcentaje reducido de los animales incluidos en el sistema de trazabilidad permitiría disponer de una herramienta de auditoría y verificación para

**Cuadro 1:** Se muestran los 6 genotipos de DNA para 9 microsatélites en pares de base, pertenecientes a las diferentes muestras: pelo y media carcasa (A y B) y su correspondencia con un mismo chip y N° ordinal.

N° animal	Muestra	TGLA								
		227	BM2113	ETH10	SPS115	TGLA126	TGLA122	INRA23	ETH225	BM1824
1149	Pelo	81	141	217/221	248/260	117/121	143	214	146/150	178/180
	musc,A	81	141	217/221	248/260	117/121	143	214	146/150	178/180
	musc,B	81	141	217/221	248/260	117/121	143	214	146/150	178/180
2104	Pelo	91/93	133/139	221	252	117	169	206/214	148	182
	musc,A	91/93	133/139	221	252	117	169	206/214	148	182
	musc,B	91/93	133/139	221	252	117	169	206/214	148	182
1150	peio	81/91	137/139	217	256/260	121	141/183	214	140/146	178
	musc,A	81/91	137/139	217	256/260	129	141/183	214	140/146	178
	musc,B	81/91	137/139	217	256/260	121	141/183	214	140/146	178
2106	pelo	81/91	133/135	217/221	252/260	115	150/161	204	140/150	178/182
	musc,A	81/91	133/135	217/221	252/260	115	150/161	204	140/150	178/182
	musc,B	81/91	133/135	217/221	252/260	115	150/161	204	140/150	178/182
1145	pelo	89	135/141	219/221	248	117/123	141/143	208/214	144/148	182/188
	musc,A	89	135/141	219/221	248	117/123	141/143	208/214	144/148	182/188
	musc,B	89	135/141	219/221	248	117/123	141/143	208/214	144/148	182/188
1147	pelo	81/87	133	217/221	248/256	115/117	141/169	214	140/150	182/190
	musc,A	81/87	133	217/221	248/256	115/117	141/169	214	140/150	182/190
	musc,B	81/87	133	217/221	248/256	115/117	141/169	214	140/150	182/190



cualquiera de los métodos de trazabilidad utilizables en la producción ganadera, contribuyendo como un componente en aquellos servicios tecnológicos que se puedan implementar en Uruguay como parte del proceso de valorización y certificación de la calidad de las carnes bovinas.



**Figura 1:** Ferograma con los alelos (pares de base) de los STR: TGLA122 e INRA 23 pertenecientes a la muestra 4299 y sus respectivas carcasas 5A y 5B.

### Agradecimientos:

Paula Nicolini, Nevia Martinez.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Arias F. (2005). La trazabilidad del ganado. Curso: "Trazabilidad y diferenciación de calidad de procesos y productos agroalimentarios en el MERCOSUR". Montevideo, Uruguay. Ed. en cd.

Kelly L, Solares E, Cardozo O, Aguerre V, Capdeville F. (2005) Avances de la tipificación de DNA bovino en una población cruce de Hereford del Uruguay. Jornadas de buiatría. XXXIII, Paysandú, Uruguay. 33: 216-218.

Piperno P, Olivera R. (2005). Sistema nacional de información ganadera una nueva herramienta para la salud animal. Jornadas de Buiatría. XXXIII, Paysandú, Uruguay. 33: 40-41.

Thomas J. (2005). Herramientas recomendadas para el control de procesos cadena cárnica bovina. "Enfoque del campo a la mesa". Curso: "Trazabilidad y diferenciación de calidad de procesos y productos agroalimentarios en el MERCOSUR". Montevideo, Uruguay. Ed. en cd.