

# Implementación de un sistema para la trazabilidad de bovino de carne

## Identificación electrónica (e-ID) y marcadores moleculares (ADN)

J. Ghirardi, G. Caja • Grupo de Investigación en Rumiantes, Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos, U. A. de Barcelona, Bellaterra

En los últimos años existe una creciente preocupación por parte de los consumidores por conocer el origen e historial de procesamiento de los alimentos que se consumen, concepto denominado como trazabilidad. La trazabilidad primeramente se demostraba como opción voluntaria, pero actualmente se ha convertido en una necesidad objetiva para dar cumplimiento al Reglamento Europeo (EC 178/2002) que exige la trazabilidad en la cadena alimentaria. El desarrollo de este concepto, se remonta a las últimas tres décadas y tiene su origen en las distintas crisis afrontadas por el sector, tales como la EEB, los brotes de fiebre aftosa, o los problemas por alimentos contaminados con dioxinas, que centraron fuertemente la atención en dicho concepto. Por estas razones, la seguridad en la cadena alimentaria se ha convertido en un factor de la gran importancia, según lo demuestra la creciente demanda de certificación de los productos cárnicos.

El objetivo del presente trabajo fue implementar y validar un doble sistema de identificación y trazabilidad para los bovinos y su carne, basado en el uso de la identificación electrónica y los marcadores moleculares (ADN) y se realizó en el marco de un Proyecto de Investigación financiado por la Comisión Europea sobre trazabilidad del ganado y la carne (5º Programa FAIR, Proyecto QLk1-2001-02229: 'EID+DNA Tracing').

### Dispositivos, animales y metodología de identificación en granja

Se utilizó un total de 3.657 terneros de cebo pertenecientes a distintas explotaciones de la Cooperativa de Ivars (Ivars de Urgell, Lleida) que fueron identificados después del periodo de adaptación a su llegada a las explotaciones y en todos los casos antes de los 90 días de edad (**Figura 1**), utilizando dos tipos de bolos ruminales de material cerámico.

El bolo B1 (75.2 g; 21.0 x 68.0 mm diámetro x largo; Rumitag, Barcelona) fue el previamente utilizado, a gran escala, en el Proyecto Europeo IDEA (Identificación Electrónica de Animales). El segundo bolo B2 (72.5 g; 18.0 x 77.5 mm diámetro x largo) correspondió a un prototipo específicamente desarrollado para el Proyecto 'EID+DNA Tracing' y también fabricado por Rumitag. Todos los terneros estaban oficialmente identificados con dos crotales plásticos OE (10.1 g; Senior, Azasa, Madrid), de acuerdo al Reglamento Europeo CE 1760/2000.

Los bolos ruminales fueron aplicados durante la fase de lactancia artificial por el mismo personal encargado del manejo de los terneros en cada una de las explotaciones. Durante la aplicación, los terneros se inmovilizaron utilizando los comederos autoblocantes donde previamente recibían el sustituto lácteo.

En el momento de la aplicación de los bolos ruminales se tomó también una biopsia de la oreja de cada animal, mediante dos sistemas que permiten la toma de muestras durante la colocación de crotales plásticos (**Figura 2**): E1 (n = 2.562; Biopsytec, Biopsytec Analytik und Logistik, Germany) y E2 (n = 1.095; TypiFix, Agrobiogen, Germany). Ambos crotales consisten en tubos de muestras cuyos tapones (colocados en las piezas machos de los crotales) actúan como sacabocados, cortando un pequeño trozo de tejido auricular, para el posterior análisis del ADN.

El código de cada tubo de biopsia se vinculó con el código del bolo ruminal aplicado a cada animal mediante un lector de radiofrecuencia, quedando así correlacionadas la identificación electrónica y la muestra de tejido auricular. Inmediatamente después de la toma de muestras, los tubos de biopsias se almacenaron en congeladores a -18°C (Biopsytec) o se conservaron a temperatura ambiente (TypiFix).

Los controles o lecturas de los bolos ruminales fueron re-

Aplicación de un bolo electrónico para la identificación de un ternero lactante





Crotales para toma de biopsias (derecha: E1, Biopsytec; e izquierda: E2, TypiFix) usados en terneros

alizados mediante lectores portátiles y/o estacionarios, inmediatamente después de la identificación, a las 24 h post-aplicación, previamente a cada movimiento de ganado entre explotaciones, así como de la salida de la explotación con destino al matadero.

Los terneros fueron enviados a sacrificio cuando alcanzaron un peso de 360-380 kg PV en hembras y 460-480 kg PV en machos. Todos los animales fueron faenados en el matadero 'Mercabarna' (Barcelona) trabajando a una velocidad de línea de aproximadamente 70 terneros/h.

### Transferencia de la identidad del animal a la canal en el matadero

El proceso de transferencia del código de identificación desde el animal (bolo ruminal) a la canal, fue automatizado mediante el desarrollo de distintos equipos y lectores instalados en la línea de sacrificio del matadero.

Como soporte para la identificación automatizada de las canales se escogió un tipo de etiquetas electrónicas de radiofrecuencia (Tag-it, Tiris, Holanda) a alta frecuencia (13.56 MHz) de acuerdo con el estándar ISO/IEC 15693. Estas etiquetas poseen una memoria de 2.048 bits organizados en 64 bloques de 32 bits y una antena marco de 45 x 76 mm (Figura 3). Para permitir su fijación a las canales, las etiquetas fueron colocadas dentro de bandas plásticas adhesivas rectangulares (3M España, Madrid).

Durante el proceso de faenado y previo al desollado, se colocó una etiqueta electrónica en blanco en la extremidad posterior izquierda de cada animal, justo a la altura del tar-

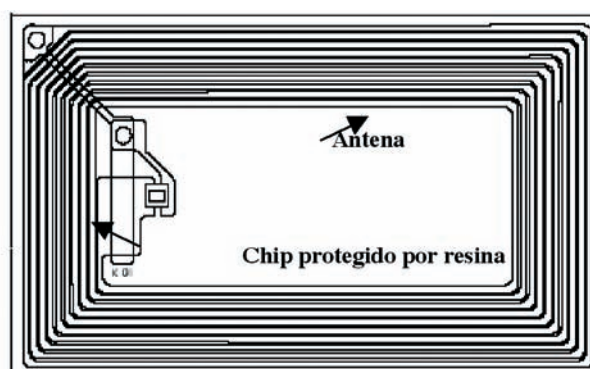
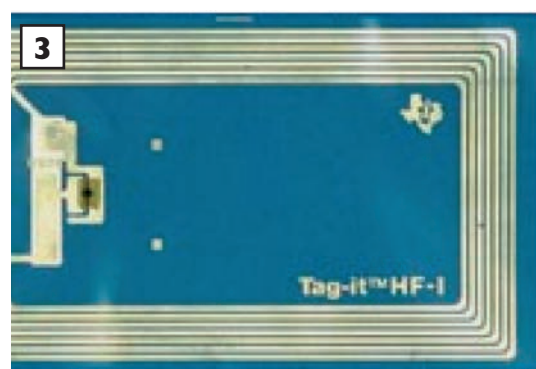
so (garrón), envolviendo a los tendones flexores. Posteriormente, en la zona de eviscerado se procedió a la lectura automática de cada bolo ruminal mediante el uso de una antena marco (94 x 52 cm, Rumitag) colocada debajo de la cinta transportadora de vísceras, en el punto donde estas caen tras desprenderse del animal.

En este mismo paso, el código del bolo ruminal fue transferido a la etiqueta electrónica de radiofrecuencia mediante un lector-grabador (S6350, Tiris, Holanda) colocado en la línea de sacrificio a la altura del garrón (Figura 4). La activación del sistema de lectura y transferencia se automatizó mediante la colocación de un sensor de tipo final de carrera justo antes del punto de eviscerado. Los bolos fueron recuperados manualmente por el personal del matadero mediante palpación de los estómagos en la tripería.

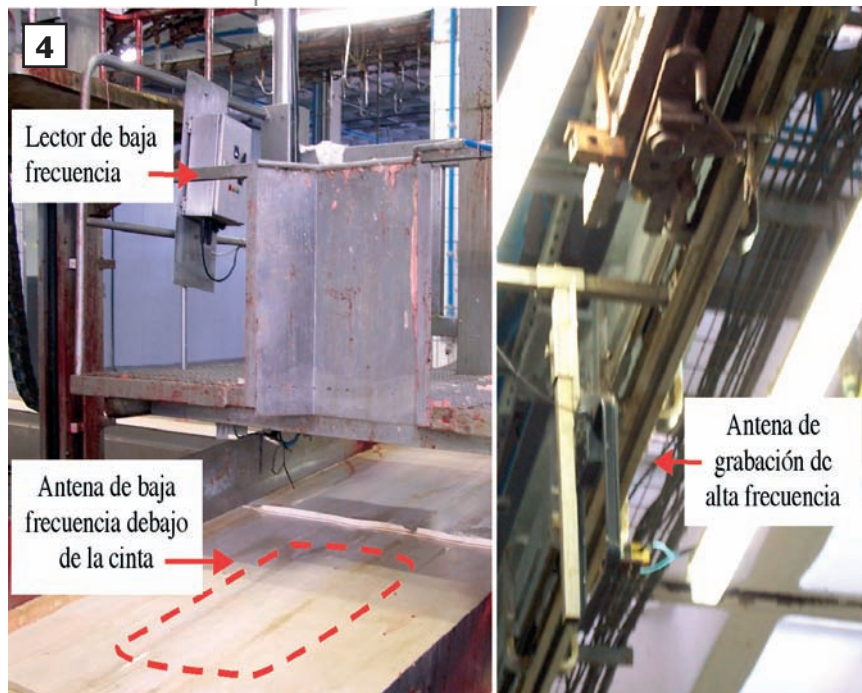
### Toma de muestras de las canales

Al final del proceso de faenado y antes de la distribución de las canales, se procedió a tomar una segunda muestra de tejido para su análisis y comparación con la muestra obtenida de los animales en origen.

Para ello se utilizaron dos dispositivos de muestreo: El primer dispositivo (E1) consistió en tubos de biopsia (Biopsytec) que recogieron la muestra mediante un sacabocados, pero sin la aplicación de un crotal. El segundo dispositivo (E2) fue una lanceta plástica con punta de bordes en sierra (Identi-Gen, Dublin, Irlanda); estas lancetas se guardaron individualmente en bolsas de plástico numeradas conservadas en nevera hasta su envío a laboratorio.



Etiquetas electrónicas de alta frecuencia (13.56 MHz) utilizadas para identificar las canales, tamaño de la antena: 45 x 76 mm.



Punto de lectura de bolos ruminales tras la evisceración, y grabador de etiquetas colocado en la línea a la altura del garrón

Los tubos y lancetas utilizados para tomar las muestras en el matadero, fueron vinculados con el código de identificación electrónico de las canales, mediante un lector de alta frecuencia conectado a un ordenador de mano (Pocket PC, iPAQ h2210, Hewlett-Packard). Todas las muestras fueron almacenadas a  $-18^{\circ}\text{C}$  hasta su envío a laboratorio para el análisis del ADN.

Para dicho análisis se seleccionaron 12 microsatélites específicos para bovino, con el fin último de evaluar el grado de coincidencia en la vinculación de las muestras obtenidas durante la colocación de crotales respecto a las muestras procedentes de las canales. Los análisis de los microsatélites se realizaron en el 'Servei de Genètica Veterinària' de la UAB.

Todos los datos obtenidos a lo largo del proceso anteriormente descrito fueron periódicamente transferidos a una base de datos central, desarrollada específicamente para el proyecto 'EID+DNA Tracing' ([www.uab.es/tracing/](http://www.uab.es/tracing/)).

Para completar la cadena seguida por la carne y de esta forma implementar un sistema de auditoría de la trazabilidad, se planteó un tercer punto de toma de muestras. En este caso, se efectuaron muestreos de un total de 30 cortes de carne procedentes de 9 carnicerías distribuidas en diferentes puntos de la ciudad de Barcelona.

Los resultados de eficiencia de los dispositivos utilizados fueron analizados estadísticamente por medio del procedimiento CATMOD de SAS (versión 8.2, SAS Inst. Inc., Cary, USA). Los tiempos de aplicación y biopsia fueron analizados por medio del procedimiento GLM de SAS.

## Resultados obtenidos

No se observaron signos aparentes de alteración del bienestar animal después de la aplicación de los bolos ruminales en ninguno de los terneros. Esto coincide con los

resultados previamente reportados por Caja et al. (1999), Lambooij et al. (1999) y Fallon et al. (2002) cuando administraron tipos similares de bolos ruminales a terneros de cebo.

La mortalidad total durante el periodo de cebo fue de 2.9%. Esta mortalidad fue mayor que el 1.9% reportado por Ghirardi et al. (2006a) en terneros bajo similares condiciones intensivas. A su vez, se encontró por debajo del promedio de 6% mencionado por Buxadé (1997) para terneros en condiciones de cebo intensivo en España.

El tiempo medio requerido para la administración del bolo y la toma de biopsia, con los terneros inmovilizados en el cornadizo autoblocante, fue de  $52 \pm 6$  s. Este tiempo no difirió entre los dos tipos de bolos utilizados ( $P = 0.621$ ). Sin embargo, se observaron diferencias significativas en los tiempos de aplicación de los dos tipos de dispositivos de biopsias (E1, 53 s; y E2, 47 s;  $P < 0.001$ ). El tiempo obtenido en nuestro trabajo fue mayor que el reportado en terneros de entre 1 y 20 semanas de edad por Caja et al. (1999; 19 s) y Ghirardi et al. (2006a; 45 s) para la administración de bolos ruminales sin toma de biopsia.

Con respecto a la retención de crotales oficiales (OE) de plástico al final del periodo de cebo, se registró un 3.6% de pérdidas, aunque no se registró ningún caso de pérdida de ambos crotales en el mismo animal. Estos valores coinciden con los previamente reportados por Ghirardi et al. (2006a; 3.5%), y fueron menores a los reportados por Conill et al. (2000; 11.4%) bajo condiciones similares de manejo. Con respecto a la retención de bolos ruminales durante el periodo de cebo, su valor varió entre 99.8 a 100% (**Tabla 1**) de acuerdo con el tipo de bolo. El 100% de retención del tipo B2 coincide con lo reportado previamente por Ghirardi et al. (2006a) para el mismo tipo de bolo en terneros de cebo intensivo. La retención final para el bolo tipo B1 fue similar al 99.7% reportado por Ribó et al. (2003) y San Miguel et al. (2005) durante el Proyecto Europeo IDEA.

La retención de los crotales de biopsia desde el periodo de lactancia artificial hasta el sacrificio fue del 98.4% y 99.1% para E1 y E2, respectivamente (**Tabla 1**). Sin embargo, se observaron algunos inconvenientes con el empleo de los dispositivos E1, como la incomodidad para trabajar con tapones de reducido tamaño, lo cual provocó pérdidas de los mismos; además se observaron roturas de algunos dispositivos ( $n = 32$ ; 1.2%) durante su aplicación. En el caso del E2, sólo se reportaron 3 tubos (0.3%) rotos (**Tabla 1**) lo cual puso de manifiesto su mejor adecuación a las condiciones de trabajo en granja.

Una vez sacrificados, un 37% de los terneros ( $n = 1.209$ ) no se pudieron leer a su ingreso a la línea de faenado, ya que los equipos de lectura necesitaron reiteradas modificaciones y mejoras para adaptarlos a las condiciones del matadero. Para el resto de los terneros electrónicamente identificados con bolos ruminales ( $n = 3.267$ ), la transferencia automática del código de e-ID a las etiquetas adheridas a las canales fue satisfactoria en el 98.6% de los casos (**Tabla 1**).

Uno de los principales problemas observados durante la transferencia automática del código de identificación elec-

trónico de los bolos a las canales fue debido al lugar de fijación de las etiquetas electrónicas de radiofrecuencia. Así, su colocación a la altura del garrón, justamente donde se fija mecánicamente la canal al momento del desollado, provocó la rotura por compresión de lagunas de etiquetas (1.4%). Como consecuencia de ello, debería tenerse en cuenta una nueva posición para la colocación de las etiquetas y de esta manera evitar su rotura. Aunque ambos procesos tanto la lectura de los bolos ruminales como la transferencia de la identidad a las canales fue un proceso automático, se necesitó un operario extra en la línea de sacrificio para colocar las etiquetas en las canales, lo que supone un incremento del coste operativo del matadero.

La trazabilidad total desde las explotaciones de engorde a las canales fue mayor con el bolo ruminal B2 que con B1 (98.1 y 97.8%, respectivamente;  $P < 0.05$ ), tal como se indica en la Tabla 1. El resultado de retención obtenido por los bolos B2 se consideró como satisfactorio para asegurar la trazabilidad desde los terneros hasta sus canales en la práctica. Estos valores son superiores a los reportados por Ghirardi (2002) quien indicó un 95.9% de trazabilidad individual para el caso de utilizar crotales convencionales con códigos de barras en similares condiciones de faenado.

Un total de 900 (44.6%) canales de las etiquetadas electrónicamente ( $n = 2.017$ ) fueron muestreadas por medio de dos tipos de dispositivos E1 y E2. Durante el muestreo un 1.4% de las etiquetas de las canales no pudieron ser leídas o se presentaron rotas, resultando así un 98.6% de las muestras correctamente leídas y vinculadas con el código de identificación electrónico que poseía el animal en vida.

Además, el 0.7% de los tubos de muestras tipo E1 se rompieron durante el muestreo, estas muestras fueron repetidas utilizando nuevos tubos. En las mismas condiciones, el dispositivo tipo lanceta E2 (100%) demostró ser más adecuado para la toma de muestras desde las canales.

A fin de auditar el proceso de trazabilidad, se eligieron al azar un total de 176 pares de muestras de los terneros y de las canales (8.7% de los terneros faenados) que fueron analizadas para determinar el polimorfismo del ADN de un total de 12 microsátélites, específicamente seleccionados para bovinos (Sánchez et al., 2005).

El resultado fueron 5 pares (2.8%) de muestras no coincidentes. Estos fallos pudieron deberse a errores humanos durante el muestreo de las canales o durante la preparación y envío de las muestras al laboratorio. Además, en las muestras enviadas para analizar se detectó la presencia de individuos gemelos univitelinos (0.6%).

La auditoria realizada en los puntos de venta al público, sobre un total de 30 cortes de carne recogidos de 9 carnicerías diferentes, evidenció un 100% de coincidencia entre las muestras de los terneros y las muestras de las canales.

## Conclusiones

Cuando se utilizan dispositivos adecuados, como fueron en este caso los bolos electrónicos y dispositivos de toma de biopsias, el doble sistema de identificación y auditoria

**Tabla 1**

Resultados de la implementación de un doble sistema de identificación y trazabilidad basado en la identificación electrónica y el ADN en terneros de cebo y su carne<sup>1</sup>.

Item	Crotales		Bolos		Total, n (%)
	E1	E2	B1	B2	
En la explotación					
Aplicados, n	2,562	1,095	3,057	600	3,657 (100)
Bajas, n	82	24	85	21	106 (2.9)
No reportados <sup>2</sup>	199	79	235	43	278 (7.6)
Rotos al aplicar, n (%)	32 (1.2)	3 (0.3)	-	-	35 (0.9)
Trazados, n	2,281	992	2,737	536	3,273 (89.5)
Pérdidas, n (%)	37 (1.6)	9 (0.9)	6 (0.2)	0	-
Trazabilidad, %	98.4 <sup>c</sup>	99.1 <sup>b</sup>	99.8 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	-
En el matadero					
Sacrificados, n	-	-	2,737	536	3,273
Bolos retenidos	-	-	2,731	536	3,267
Transferencia e-ID a canales					
Bolos leibles <sup>2</sup>			1,522	536	2,058 (63.0)
Bolos leídos en línea, n	-	-	1,512 (99.3)	534 (99.6)	2,046 (99.4)
Canales etiquetadas, n	-	-	1,491 (98.6)	526 (98.5)	2,017 (98.6)
Etiquetas no grabadas, n (%)	-	-	21 (1.4)	8 (1.5)	29 (1.4)
Trazabilidad, %	-	-	98.0 <sup>b</sup>	98.1 <sup>a</sup>	-
Trazabilidad total, %	-	-	97.8 <sup>b</sup>	98.1 <sup>a</sup>	-
Auditoria en Matadero					
Canales muestreadas, n	357	543	731	169	900 (44.6)
Rotos al muestrear, n (%)	6 (0.7)	0	-	-	6 (0.7)
Muestras analizadas, n (%)	-	176 (8.7)	-	-	176 (8.7)
ADN no coincidente, n (%)	-	5 (2.8)	-	-	5 (2.8)
Conformidad, %	-	97.2	-	-	97.2
Auditoria en punto de venta					
Cortes muestreados, n		50	27	23	50
Rotos al muestrear, n (%)		0			0
Muestras analizadas, n (%)		50 (5.6)			50 (5.6)
AND no coincidente, n (%)		0			0
Conformidad, %		100			100

<sup>1</sup> Abreviaturas: Crotales Biopsytec (E1), Crotales Typi-Fix y lancetas plásticas para canales (E2), bolo Rumintag de 75 g (B1) y bolo Rumitag de 73 g (B2).

<sup>2</sup> Terneros comprobables en línea. Un total de 1,209 terneros no pudieron ser leídos debido a fallos en los equipos de lectura al comienzo del experimento, dichos equipos necesitaron modificaciones para su adaptación a las condiciones del matadero. Estos terneros fueron leídos manualmente por medio de un lector manual a la entrada en la línea de sacrificio.

<sup>a, b, c</sup> Valores con diferentes letras en la misma línea son diferentes a  $P < 0.05$ .

'e-ID+ADN Tracing' mostró altos niveles de trazabilidad individual para la cadena de producción de carne bovina seguida (97.2%). Además, la aplicación de la etiquetas electrónicas de radio frecuencia y la transferencia automática de la identificación individual del animal a la canal, demostró ser una técnica de alto interés para conseguir una elevada trazabilidad individual en la cadena cárnica del bovino. Sin embargo, los equipos de lectura así como el soporte de las etiquetas y lugar de colocación deberían ser mejorados para su implementación a mayor escala.

## Bibliografía

Información complementaria y bibliografía sobre este artículo pueden ser obtenidas de sus autores en las direcciones [juan.ghirardi@uab.es](mailto:juan.ghirardi@uab.es) y [gerardo.caja@uab.es](mailto:gerardo.caja@uab.es)

Este trabajo se incluye en las actividades de diseminación de los resultados obtenidos en el proyecto de investigación Europeo QLk1- 2001-02229 del programa "Quality of Life and Management of Living Resources" de la Comisión Europea (disponible en <http://www.uab.es/tracing/>).