

XVIII Jornadas Nacionales de la Carne y la Seguridad Alimentaria I Encuentro Hispano-Marroquí de la Carne

Inspección ante y post mortem para detección de animales sospechosos de tratamientos con promotores del crecimiento y sustancias de acción farmacológica (Financiado por AESAN)

A. Ariño¹, MJ. Pérez-Amador¹, G. Cubero², MP. Morollón² y A. Herrera¹

1: Universidad de Zaragoza aarino@unizar.es

2: Gobierno de Aragón



Colaboradores del Convenio (1)

- Grupos de Investigación Consolidados-DGA, UZ:
 - "Análisis y Evaluación de la Seguridad Alimentaria"
 - "Calidad y Tecnología de la Carne"
- Dpto. de Patología Animal, FVZ
 - Unidad de Histología y Anatomía Patológica
 - Unidad de Patología General, Médica y de la Nutrición
- CITA Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón
- Dirección General de Salud Pública. Servicio de Seguridad Alimentaria y Medioambiental



Colaboradores del Convenio (2)

- Laboratorio de Salud de Zaragoza
- Laboratorio Agroalimentario
- Lab. Nac. Referencia (corticosteroides) (AESAN)
- Dep. de Salud de la Generalitat de Cataluña.
- Consejería de Sanidad de la Junta de Comunidades de Castilla – La Mancha
- Mataderos de Aragón, Cataluña y Castilla-LM
- AVESA (antes ADITSIC)



Objetivo principal

- Determinación de un sistema de detección de animales sospechosos de tratamientos de engorde ilegal aplicable a la mejora de la inspección en mataderos:
 - Encuesta de valoración ante y post mortem
 - Kit de inmunoensayo enzimático en ojo (ELISA)
 - Estudios anatomopatológicos e histológicos
 - Estudios de calidad de la canal y de la carne
 - Indicadores de estrés metabólico
- Validación del sistema y contraste con métodos laborales oficiales de análisis de residuos



Estudio experimental

- 12 terneros Blonde d'Aquitaine, 3 grupos:
 - Control (sin adición de anabolizantes)
 - Clenbuterol (5-10 µg/kg) + dexametasona (7,5 µg/kg), supresión de 8 días
 - Hormonas (2 implantes benzoato de estradiol y progesterona) + dexametasona (7,5 µg/kg), supresión de 8 días
- ✓ Valoración ante y post mortem (encuesta)
- ✓ Calidad de canal y de carne
- ✓ Estudio anatomopatológico
- ✓ Indicadores hematológicos y bioquímicos de estrés
- ✓ Residuos: pelo, orina, oreja, hígado y ojo

Encuesta ante y post mortem

CARACTERES DISCRIMINATORIOS

- De los 14 caracteres ante mortem:
 - Morfología de los animales
 - Relajación de ligamentos
- De los 17 caracteres post mortem:
 - Desarrollo y conformación muscular
 - Estado de engrasamiento

Calidad de la canal

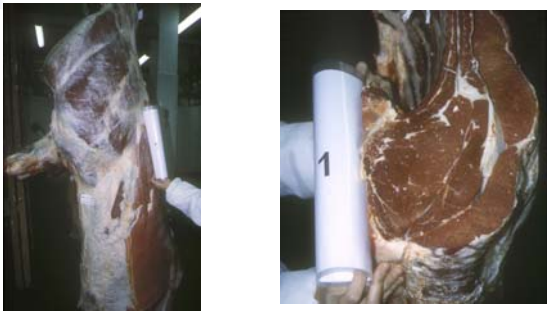


Control

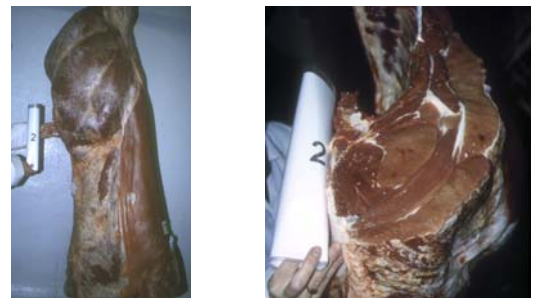
Clenbuterol

Hormonas

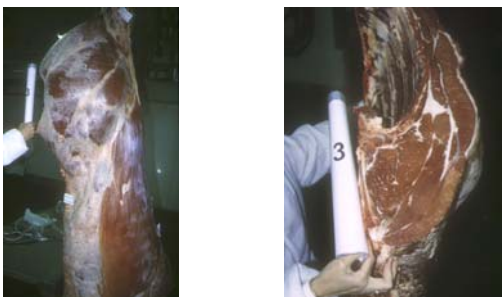
LOTE CONTROL



LOTE CLENBUTEROL



LOTE HORMONAS



Calidad de la canal

- Lote clenbuterol + dexametasona
 - Mayor rendimiento canal
 - Menor engrasamiento
 - Mayor porcentaje de músculo
 - Mayor perímetro de pierna
- Lote hormonas + dexametasona
 - Mayor porcentaje de hueso

Calidad de la carne

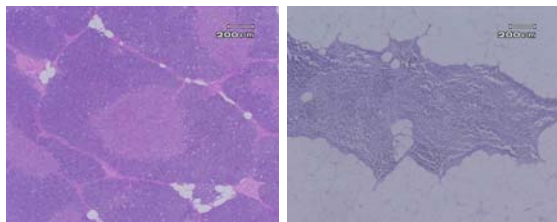
- Lote clenbuterol + dexametasona
 - Color más pálido
 - Mayor capacidad retención de agua
 - Menor ternura inicial de la carne

Las diferencias entre lotes no fueron significativas

Estudio anatomopatológico e histológico

Adrenales	Sin diferencias destacables
Testículo	Sin diferencias destacables
Tiroides	Sin diferencias destacables
Diafragma	Sin diferencias destacables
Hígado	Sin diferencias destacables
Riñón	Sin diferencias destacables
Timo	Depleción linfocitaria patente en los administrados con dexametasona

Lesiones AP en timo en tratados con dexametasona



Timo normal (control)

Timo con depleción linfocitaria

Indicadores de estrés

- CLEN y HORM: > % linfocitos, < % neutrófilos y < tasas de cortisol
- HORM: mayor tasa de hemoglobina
- CLEN: mayor tasa AST (aspartato-aminot.)



Determinación de residuos

Pelo	CLEN es (+) 1 mes tras inicio del tratamiento y se mantiene hasta el sacrificio (GC-MS)
Orina	CLEN es (+) 1 semana tras inicio del tratamiento pero (-) 1 semana antes del sacrificio (GC-MS) DEXA es (+) hasta el sacrificio (GC-ECD) HORM es (-) en toda la experiencia (GC-MS)
Hígado	CLEN es (-) en 100% hígados (GC-MS) DEXA es (-) en 100% hígados (LC-DA)
Ojo	CLEN es (-) en 100% ojos (ELISA) iii CLEN es (+) en 100% ojos (GC-MS)
Oreja	HORM es (+) en animales implantados (GC-MS)

Segunda parte Estudio de campo 2004-2005

Muestreo en mataderos

- 89 lotes investigados (64 ♂ y 25 ♀) en 8 mataderos distintos
- Terneros de 12 a 14 meses
- Peso medio de la canal: 292 kg

Zaragoza	17	Lérida_1	6
Huesca	13	Lérida_2	10
Teruel_1	17	Toledo	8
Teruel_2	9	Ciudad Real	9

Selección de lotes de terneros



Determinaciones realizadas

- Estudio fotográfico y registro de datos
- Encuesta ante y post mortem
- β-agonistas: kit de ojo y "pool" de ojos
- Medidas de la canal
- Indicadores hematól. y bioquímicos
- Anatomía patológica: timo
- Residuos: hormonas, β-agonistas, corticosteroides

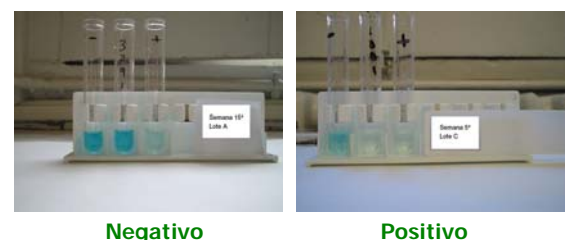
Encuesta ante mortem (14 caracteres)

Morfología de los animales	Presencia de traumatismos
Homogeneidad del lote	Diarreas hemorrágicas
Aspecto de los establos	Lesiones cutáneas
Comportamiento anormal	Excitación sexual
Relajación de ligamentos	Caracteres sexuales
Aparición de edemas	Sacrificio prematuro
Movimiento de los animales	Restos de implantes o inyecciones

Encuesta post mortem (17 caracteres)

Desarrollo y conformación muscular	Lesiones de inyecciones
Estado de engrasamiento	Caracteres sexuales
Deposición de la grasa	Dilatación de la tráquea
Color de la carne	Atrofia del timo
Aspecto húmedo o exudativo de la canal	Atrofia de glándulas adrenales
Facilidad del desollado	Pérdidas de peso en oreo
Hemorragias musculares	Tamaño de hígado y riñones
Degeneraciones y coloraciones anormales	Tamaño y forma del tiroides
Implantes o sustancias extrañas	

Kit de ELISA para beta-agonistas en ojo y pool



Residuos detectados y confirmados en laboratorio

- 100% negativo a beta-agonistas en orina e hígado
 - 8 sustancias investigadas
- 100% negativo a hormonas en orina
 - 15 sustancias investigadas
- 20% Positivo a corticosteroides en orina e hígado
 - 4 sustancias investigadas

Corticosteroides detectados

- Positividad global 18 de 89 lotes (20%)
 - Dexametasona 9 positivos
 - Prednisolona 4 positivos
 - Flumetasona 4 positivos
 - Betametasona 1 positivo
 - GC-ECD (orina) y LC-DA (hígado)
 - Confirmación por LC-MS-MS en Laboratorio Nacional de Referencia
- Possible uso ilegal**

Aspectos legales: corticosteroides

- Autorizados en terapéutica veterinaria (varios usos), con distintos periodos de supresión para carne y leche
- LMR establecidos (dexametasona en bovino):
 - 2 ng/g en hígado
 - 0,75 ng/g músculo y riñón
 - 0,3 ng/mL leche
- Prohibidos como promotores del crecimiento

Toxicidad corticosteroides

- Retraso del crecimiento en niños
- Problemas cognitivos y psicológicos
- Resistencia a la insulina
- Osteoporosis
- Síndrome Cushing (supresión adrenal)
- Hipertensión arterial
- Inmunosupresión y aumento de susceptibilidad a infecciones

Estudio de campo: aplicación de la encuesta

Matadero	Sospechosos	Testigos
Zaragoza	10	7
Huesca	10	3
Teruel	19	7
Lérida	12	4
Toledo	6	2
Ciudad Real	7	2
TOTAL	64 (72%)	25 (28%)
89 lotes de terneros		

Positivos a dexametasona



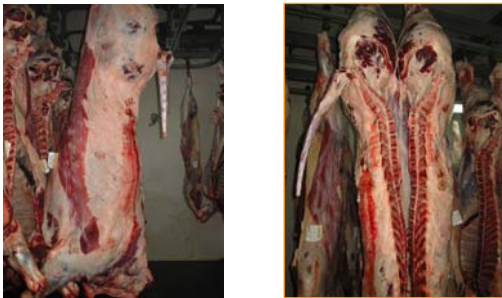
Positivos a prednisona



Positivos a flumetasona



Positivos a betametasona



Para tener en cuenta...

- En las encuestas o sistemas de detección de "animales sospechosos" en matadero la consideración de unas canales como "engrasadas" no deben excluir la consideración de las mismas como "sospechosas" de tratamientos con promotores del crecimiento.

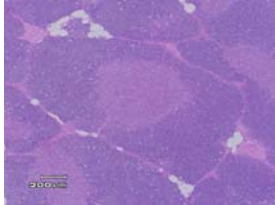
Estudio de campo: kit ELISA de beta-agonistas

- 9% lotes (8 de 89) positivos en ojo
 - Sólo en 1 lote se detectó también dexa
- 2,25% lotes positivos en *pool* de ojos
 - En ninguno se detectaron corticos
- ¿posible efecto borrador o de interferencia?: reduce la eficacia del cribado ELISA en ojo y *pool* de ojos

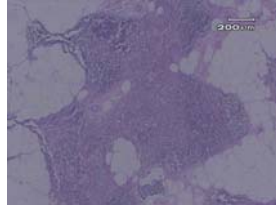
Positivo a dexametasona y a kit ELISA en ojo



Estudio de campo: lesiones AP en timo



Timo normal
83% lotes



Timo alterado
17% lotes

Aspecto macroscópico del timo



Timo normal



Timo alterado

Matriz de correlación (kappa)

	Encuesta	Kit ojo	Kit pool	Lesiones en timo
Encuesta	-			
Kit ojo	0,07	-		
Kit pool	0,02	0,04	-	
Lesiones en timo	0,03	0,03	0,04	-
Analítica corticos	0,07	0,05	0,04	0,71 (p=0,0001)

Correlación entre positivos a corticos y lesiones en timo

1	Dexa	Timo (+)	10	Flum	Timo (+)
2	Dexa	Timo (+)	11	Flum	Timo (+)
3	Dexa	Timo (+)	12	Flum	Timo (-)
4	Dexa	Timo (+)	13	Flum	Timo (-)
5	Dexa	Timo (+)	14	Pred	Timo (-)
6	Dexa	Timo (+)	15	Pred	Timo (-)
7	Dexa	Timo (+)	16	Pred	Timo (-)
8	Dexa	Timo (+)	17	Pred	Timo (-)
9	Dexa	Timo (+)	18	Beta	Timo (-)

Nota: hubo 4 timos (+) pero negativos a corticos

Estudio hemátol. y bioquímico

- No hay diferencias estadísticas:
 - Hemograma, leucograma
 - Glucosa, lactato, CPK y Alanin-aminotransferasa
- Positivos a corticos **mayores tasas AST** ($p=0,0004$): 175 vs. 121 U/L
 - Valor referencia: 78-132 U/L
- Positivos a dexametasona **menores tasas de cortisol** ($p=0,08$): 6,5 vs. 22,1 ng/mL
 - Valor referencia: 10-50 ng/mL

Calidad de la canal

- No hay diferencias estadísticas:
 - Longitud, peso y compacidad de la canal
 - Longitud, superficie y medidas A y B lomo
 - Perímetro de la pierna
 - Conformación SEUROP y engrasamiento
 - % testículo*
 - % ovario

* Tendencia a mayor peso de testículo en los positivos a dexametasona

¿Cómo rentabilizar el estudio en la práctica de control?

- Continuar el estudio del **timo**
 - Detección de corticosteroides en timo:
 - Pruebas de cribado (ELISA)
 - Técnicas instrumentales (GC-MS, LC-MS-MS)
- Continuar el estudio de **AST**
 - Confirmar los cambios bioquímicos
- Sugerencias??

Gracias por su atención