

Utilidad de la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (IRTF) para detectar larvas musculares de *Trichinella spiralis* (Owen, 1835) en jamón y salchichas hechas de carne de un cerdo infectado experimentalmente

Jorge Luis de la Rosa Arana ^a

Jesús Benjamín Ponce Noguez ^b

Tzayhri Gallardo Velázquez ^c

Nydia Edith Reyes Rodríguez ^b

Andrea Paloma Zepeda Velázquez ^b

Ana Berenice López Lugo ^d

Alejandro Pablo Sánchez Paredes ^d

Pablo Martínez Labat ^d

Fabián Ricardo Gómez de Anda ^{b*}

^a Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. Laboratorio de Inmunoparasitología. Ciudad de México.

^b Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Tulancingo de Bravo, Estado de Hidalgo, México.

^c Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Biofísica. Ciudad de México.

^d Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, laboratorio de Parasitología.

*Autor de correspondencia: fabian_gomez9891@uaeh.edu.mx

Resumen:

El objetivo de este trabajo fue determinar la utilidad de la espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (IRTF) para detectar larvas musculares de *Trichinella spiralis* (Owen, 1835) en jamón y salchichas hechas de carne de un cerdo infectado experimentalmente. Las larvas musculares (LM) se buscaron mediante métodos convencionales (digestión artificial y triquinoscopia teñida con tinción de hemalum de Mayer) y por espectroscopia IRTF. Además, se analizó la capacidad infectiva de las larvas encontradas en los productos porcinos. La carga parasitaria fue de 8.5 ± 3 LM/g en jamón y 4.5 ± 1.4 LM/g en salchicha ($P < 0.0001$). Los espectros de los productos porcinos preparados con la carne de un cerdo no infectado fueron diferentes en el rango de $1,700$ a 900 cm^{-1} con respecto a los espectros de los productos de cerdos infectados. En esta región, el glucógeno es el grupo químico más abundante ($1,200$ y 900 cm^{-1}). La distancia entre las clases entre los productos no infestados y los infestados fue de 10.2 para el jamón y de 5.52 para las salchichas (tres es el valor mínimo para indicar la separación de clases). La capacidad infectiva de las larvas recuperadas de los productos porcinos disminuyó hasta cinco veces en comparación con la de las larvas obtenidas de ratones infectados experimentalmente. Estos resultados muestran que la espectroscopia IRTF es útil para determinar la presencia de larvas de *T. spiralis* en los alimentos estudiados aquí. Se necesitan más estudios para determinar la influencia de los sabores de la carne en la detección de *Trichinella* mediante espectroscopia IRTF.

Palabras clave: *Trichinella*, Inspección de carne, Embutido, Diagnóstico, Espectroscopia infrarroja.

Recibido: 09/12/2020

Aceptado: 30/03/2021

Introducción

Trichinella spiralis (Owen, 1835) es un nematodo parásito de distribución mundial que causa la zoonosis transmitida por los alimentos llamada triquinelosis. Dado que varios casos clínicos humanos y brotes están relacionados con el consumo de carne de cerdo o productos de cerdo (embutidos) insuficientemente cocidos que albergan larvas viables⁽¹⁻⁵⁾, la Comisión Internacional de Triquinelosis emite continuamente recomendaciones para la inspección y el tratamiento de la carne destinada al consumo humano⁽⁶⁾. En los mataderos, la digestión artificial utilizando la proteasa pepsina y ácido clorhídrico es el ensayo estándar para la detección de larvas de *Trichinella*⁽⁷⁻⁹⁾. A pesar de que la inspección de cerdos en mataderos públicos es obligatoria, algunos cerdos permanecen sin ningún control sanitario y, después

del sacrificio, la carne o los productos cárnicos se venden en el país sin inspección sanitaria. Por lo tanto, los fabricantes actúan con cautela para mejorar la estabilidad de la carne de cerdo cruda utilizando técnicas de conservación. Sin embargo, se ha informado que la capacidad reproductiva de las larvas musculares de *Trichinella* no se ve afectada por el “curado húmedo”, el “adobado” (carne condimentada con chile) o el almacenamiento en frío de carne cruda⁽¹⁰⁾.

Los embutidos, además de formar parte de las costumbres culinarias de la sociedad, también son una forma de conservar la carne de cerdo. Hay algunos informes de triquinelosis humana por ingestión de salchichas de cerdo^(1,4,11,12) y, adicionalmente, Forbes *et al*⁽¹³⁾ informaron que las larvas de *T. nativa* (Britov & Boev, 1972) mantuvieron su infectividad en salchichas tradicionales del norte crudas y parcialmente cocidas preparadas con carne de focas infectadas experimentalmente. Dado que los embutidos preparados de carne de cerdo sin control podrían ser un riesgo en la transmisión de *Trichinella*, es necesario contar con alternativas de diagnóstico que puedan apoyar las técnicas recomendadas para la inspección de la carne para hacer el diagnóstico definitivo del parásito⁽⁷⁾. Un método alternativo, utilizado actualmente en el análisis de alimentos, es la espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (IRTF) con reflectancia total atenuada (RTA) y modelado independiente suave de analogías de clases (SIMCA). Se ha reportado previamente la utilidad de la espectroscopia IRTF para detectar adulteraciones en los productos de carne de cerdo^(14,15). Recientemente, alguien de nuestro grupo desarrolló el modelo para carne de rata con larvas de *T. spiralis* y fue capaz de detectar tres larvas en 10 g de carne de rata; no se observó interferencia con antígenos de *Ascaris suum* (Goeze, 1782) o *Taenia solium* (Linnaeus, 1758)⁽¹⁶⁾. En un experimento posterior, fue posible identificar larvas musculares de *T. spiralis* en cerdos infectados con diferentes dosis infectivas, de 812 a 13,000 larvas/cerdo⁽¹⁷⁾. Sin embargo, la identificación de larvas en productos cárnicos derivados de cerdos infectados estaba pendiente. Por lo tanto, este trabajo tuvo como objetivo determinar la utilidad de la espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (IRTF) para detectar larvas musculares de *Trichinella spiralis* en jamón y salchichas hechas de carne de un cerdo infectado experimentalmente.

Material y métodos

Parásito

El parásito *Trichinella spiralis* (MSUS/ME/92/CM-92) se mantuvo en ratas Wistar. El parásito se aisló en México de un cerdo infectado naturalmente en 1970 y fue tipificado en 1990⁽¹⁸⁾. Cada rata (250 g de peso corporal y 6 semanas de edad) fue infectada por vía oral con 23 larvas musculares (LM) por gramo de peso corporal (equivalente a $6,000 \pm 250$ LM por rata). La infección experimental para obtener las larvas fue aprobada por el Comité de

Ética y Cuidado de los Animales (CIECUA) del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la UAEH bajo los lineamientos de la regulación mexicana⁽¹⁹⁾. Las larvas musculares se aislaron por digestión artificial con una solución de pepsina al 0.5 % (Sigma-Aldrich St. Louis, Mo; EE. UU.) en ácido clorhídrico al 0.2 %. Después, las larvas se contaron a un aumento de 100x con microscopía de campo brillante. El número de larvas musculares de *T. spiralis* presentes en las salchichas también se evaluó mediante digestión artificial.

Infección experimental

Dos cerdos macho York Landrace (*Sus scrofa domestica* Linnaeus, 1758) de 4 semanas de edad y 10 ± 0.2 kg fueron alimentados *ad libitum* con alimento comercial granulado para la etapa de engorda (Agribrands Purina México, Cuautitlán, Edo. Méx.). Un cerdo estaba infectado con 800 larvas musculares de *T. spiralis*, equivalente a una infección leve de 0.08 larvas musculares por gramo de peso corporal; el otro cerdo permaneció sin infectar. Los animales se mantuvieron en corrales separados siguiendo las regulaciones mexicanas^(19,20). Los animales se sacrificaron utilizando una pistola de perno cautivo penetrante a las 12 semanas después de la infección y se obtuvieron tres muestras de 10 g de cinco regiones anatómicas (costilla, lomo, pierna, masetero y diafragma). Las muestras fueron sometidas a digestión artificial o compresión entre dos portaobjetos y observación a un aumento de 40x (triquinoscopía) para buscar parásitos. La carne de la pierna se utilizó para hacer el jamón, y la carne de lomo, costilla y chamorro se utilizó para hacer la salchicha, a menudo similar a los hotdogs, salchicha frankfurt o salchicha viena.

Productos de cerdo

El jamón y la salchicha se prepararon sin condimentos en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (Universidad Nacional Autónoma de México) de acuerdo con las recetas tradicionales mexicanas y de acuerdo con la regulación mexicana⁽²¹⁾. El jamón se preparó a partir de carne de pierna (605 g) sin grasa, tendones ni ligamentos. La carne se colocó en una picadora para reducir el tamaño de las piezas de carne. La salmuera se preparó utilizando fosfato de sodio (9.0 g), sal (13.3 g), azúcar (4.2 g), sal de curado (12.0 g), eritorbato de sodio (1.99 g), glutamato monosódico (0.18 g) y carragenano (4.2 g) disueltos en agua (350 ml). Luego, la carne se colocó en un recipiente y se agregó la salmuera, después el recipiente se cubrió con plástico adhesivo y se puso en condiciones de enfriamiento a 4 °C durante 24 h. Al día siguiente, la carne curada se colocó dentro de una envoltura anudada con hilo desde el extremo, eliminando tanto como fuera posible el aire para acomodar la carne. La preparación se colocó en una máquina de vacío para eliminar cualquier presencia de aire y luego anudar firmemente el extremo libre de la envoltura. El jamón se cocinó completamente sumergido en agua a 80 ± 1 °C durante 50 min y luego se enfrió durante 5 min en agua helada. La salchicha se hizo con la carne de lomo, costilla y chamorro sin tendones ni ligamentos.

La carne (595 g) se picó dos veces con hielo (110 g), sal (11 g) y sal de curado (1.7 g) para hacer una emulsión. En ese momento, se agregó grasa de cerdo (171.4 g) y hielo (110 g) mientras la picadora estaba trabajando. Posteriormente, el almidón de maíz (92.2 g) se incorporó lentamente para formar una pasta emulsionada. Sin detener la picadora, se añadió eritorbato de sodio (1.3 g), hielo (110 g) y fosfato de sodio (5.2 g). Para preparar la salchicha, se detuvo la operación de la picadora y se colocó la pasta en la parte inferior de la llenadora, que se equipó con una boquilla de 1 cm de diámetro. La boquilla se cubrió con una capa de aceite vegetal para insertar el celofán que se anudó en el extremo opuesto. Finalmente, la envoltura de celofán se llenó cuidadosamente y se dividió cada 10 a 12 cm; cada fracción estaba anudada. La salchicha se sumergió completamente en agua a 72 ± 1 °C durante 20 min y luego se enfrió durante 5 min en agua helada. Las muestras frescas se sometieron a digestión artificial y triquinoscopia para determinar el número de larvas musculares en el jamón y la salchicha.

Detección de larvas en productos porcinos teñidos con hemalum de Mayer

Las muestras de 0.1 mm de grosor de jamón y salchicha (n= 20, cada una) se tiñeron con hemalum de Mayer, como se reportó anteriormente⁽²²⁾, pero se hicieron varias modificaciones al método original. Brevemente, las muestras se incubaron en éter durante 1 h a temperatura ambiente, luego se fijaron en formalina al 10 % durante 12 h. Después, se tiñeron con hemalum (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) durante 15 min y posteriormente las muestras se deshidrataron mediante pases consecutivos a través de alcohol al 70, 80, 90, 96 y 100 % durante 15 min cada vez. Se realizó una incubación final de 20 min en salicilato de metilo antes de montar cada laminilla con resina sintética. Las preparaciones se observaron en microscopía de luz a un aumento de 40X, y se contaron las larvas musculares.

Detección de *Trichinella spiralis* en productos porcinos mediante espectroscopia IRTF

Los espectros de jamón y salchicha se obtuvieron como se describió anteriormente^(16,17), utilizando un espectrofotómetro IRTF (Spectrum GX, Perkin Elmer Massachusetts, EE. UU.) equipado con un detector de sulfato de triglicina deuterado. La estación de muestreo tiene un accesorio de reflexión total atenuada (RTA) a través del cual la radiación infrarroja pasa a un cristal de seleniuro de zinc. Se colocó una muestra de un gramo (n= 5) de cada jamón y salchicha en la estación de muestreo. Las muestras se presionaron sobre la superficie del portaobjetos para permitir que el rayo infrarrojo pasara a través de ellas y se reflejara hacia el espectrómetro y, se obtuvieron 64 lecturas (escaneos) de cada muestra analizada. Los espectros fueron obtenidos y procesados con el software Spectrum versión 3.01.00 (Perkin

Elmer, Inc.). Los espectros se escanearon en un rango de número de onda de 4,000-650 cm^{-1} , con un promedio de 64 escaneos a una resolución de 4 cm^{-1} . La región de análisis fue de 1,700 a 900 cm^{-1} .

Desarrollo del modelo SIMCA

Con los espectros obtenidos, se elaboró el modelo SIMCA (modelado independiente suave de analogías de clases) para el que se utilizaron 40 espectros de salchichas infectadas y no infectadas con larvas de *Trichinella spiralis*. A continuación, los espectros se sometieron a un análisis de modelado independiente suave de analogía de clases (SIMCA) para determinar la distancia interclase entre grupos. El valor mínimo de la distancia interclase debe ser mayor que 3 para que las dos poblaciones analizadas se consideren diferentes^(16,17).

Capacidad infectiva del parásito

Para determinar la capacidad infectiva de las larvas recuperadas mediante digestión artificial del jamón y la salchicha infectados, ratones macho ingenuos CD1 (n= 10 por producto) de 5 semanas de edad y 20 g se infectaron por vía oral con 50 ± 3 LM. Además, cinco ratones de la misma edad, sexo y peso fueron infectados con una dosis igual de LM obtenidas de una rata donante infectada experimentalmente. El día 60 posinfección, los ratones fueron sacrificados por luxación cervical y luego sometidos a digestión artificial para calcular el índice de capacidad reproductiva, es decir, el número de larvas recuperadas de los cadáveres dividido entre el número de larvas utilizadas para infectar a los ratones^(10,23). El CIECUA aprobó el protocolo experimental de infección.

Análisis estadístico

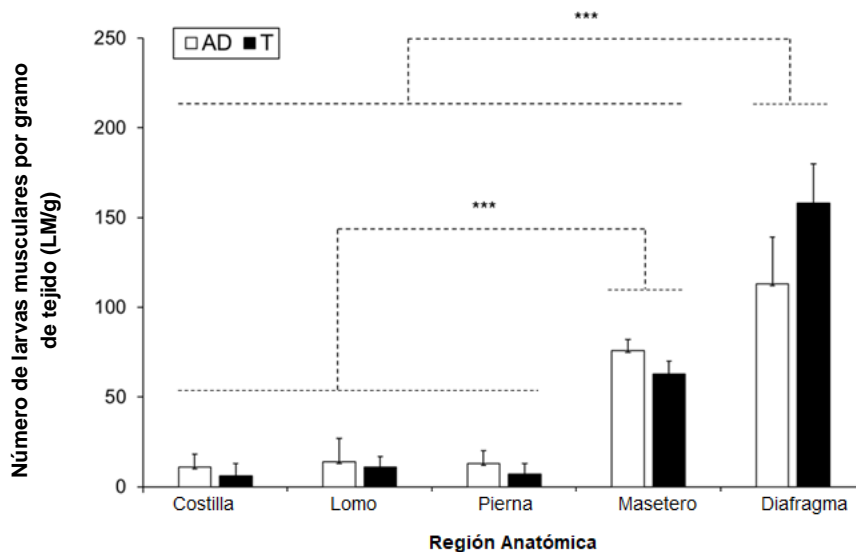
La carga parasitaria en el cerdo infectado experimentalmente se analizó utilizando la prueba ANOVA bidireccional seguida de la prueba posterior de Bonferroni. La carga parasitaria en los productos de carne de cerdo se analizó mediante la prueba T de Student no emparejada. El índice de capacidad reproductiva de las larvas recuperadas de jamón o salchicha se analizó con la prueba ANOVA unidireccional seguida de la prueba de comparación múltiple de Tukey. El análisis se realizó con el GraphPad Prism versión 6.01 para Windows (GraphPad Prism Software, versión 6.01, La Jolla California EE. UU.).

Resultados

Infección experimental del cerdo

La carga parasitaria se determinó en cinco regiones anatómicas (costilla, lomo, pierna, diafragma y masetero; $n=3$ muestras de cada región) mediante digestión artificial y triquinoscopía (Figura 1). Se observaron diferencias estadísticas entre las regiones anatómicas ($P<0.0001$) pero los resultados obtenidos con los dos métodos de detección fueron similares ($P=0.4494$). Cabe señalar que las regiones anatómicas con alta demanda comercial tienen tres veces menos carga parasitaria que el masetero y cinco veces menos que el diafragma, dos de los sitios preferidos de enquistamiento de *T. spiralis* en cerdos.

Figura 1: Carga larvaria de *Trichinella spiralis* en cinco regiones anatómicas de un cerdo infectado experimentalmente



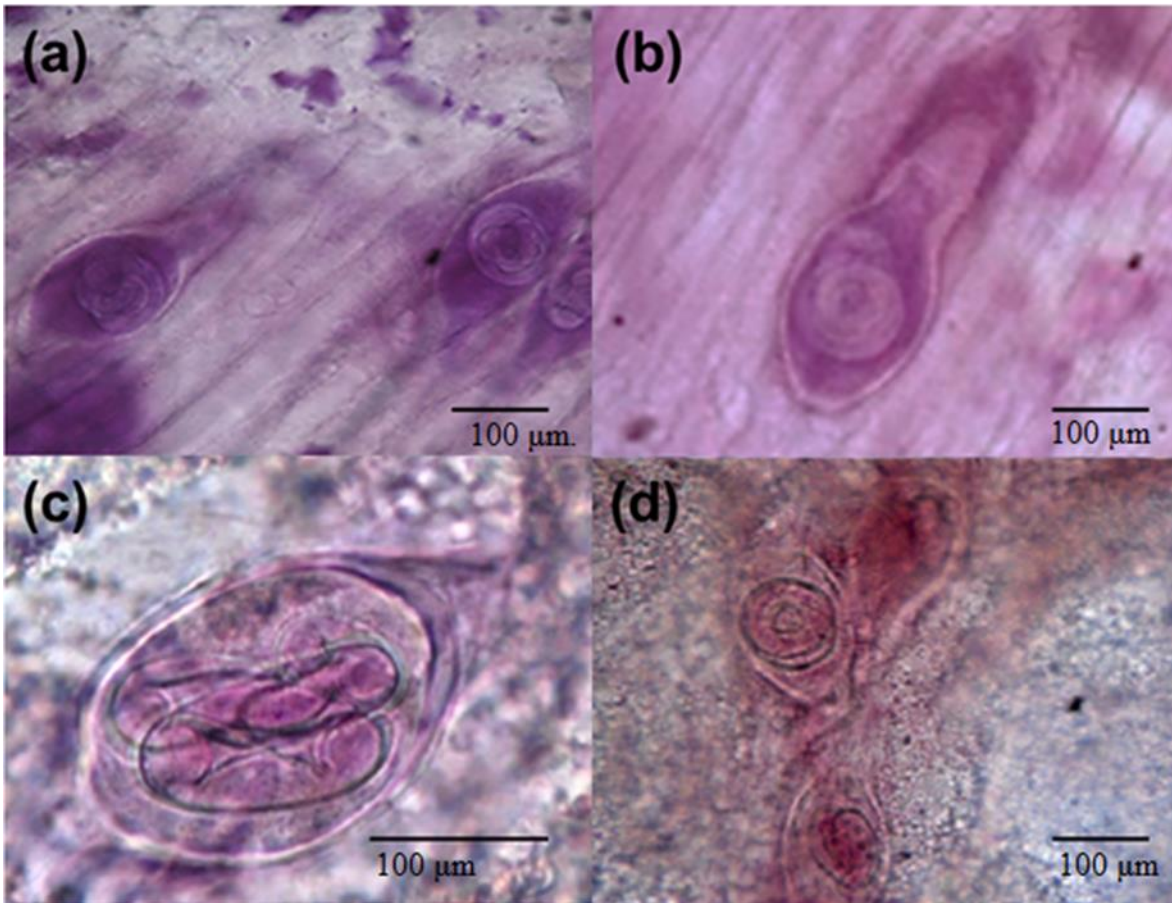
El gráfico muestra el número de larvas musculares por gramo de tejido (LM/g) obtenidas mediante digestión artificial (DA) o por triquinoscopía (T). Se analizó un total de 3 muestras, 10 g cada una, por región anatómica; el gráfico muestra el promedio de 3 muestras y su desviación estándar.

Detección de larvas en jamón y salchichas de cerdo utilizando métodos estándar

La detección de las larvas musculares en jamón y salchichas se llevó a cabo mediante digestión artificial y triquinoscopía. Sin embargo, la triquinoscopía estándar no permitió identificar claramente los parásitos debido a la interferencia de la grasa y el almidón contenidos en los productos. Veinte muestras de jamón (Figura 2, paneles “a” y “b”), y 20 muestras de salchicha (Figura 2, paneles “c” y “d”) se tiñeron con hemalum de Meyer para

mejorar la nitidez de la observación larvaria. Las larvas musculares y la célula nodriza se observaron cómo estructuras púrpuras rodeadas de células no infectadas, que eran de coloración rosa. La carga parasitaria en jamón fue de 8.5 ± 3 LM/g (media \pm DE) mientras que, en salchicha, la carga parasitaria fue de 4.5 ± 1.4 LM/g ($P < 0.0001$; Prueba T de Student, dos colas).

Figura 2: Micrografías representativas de larvas musculares de *Trichinella spiralis*



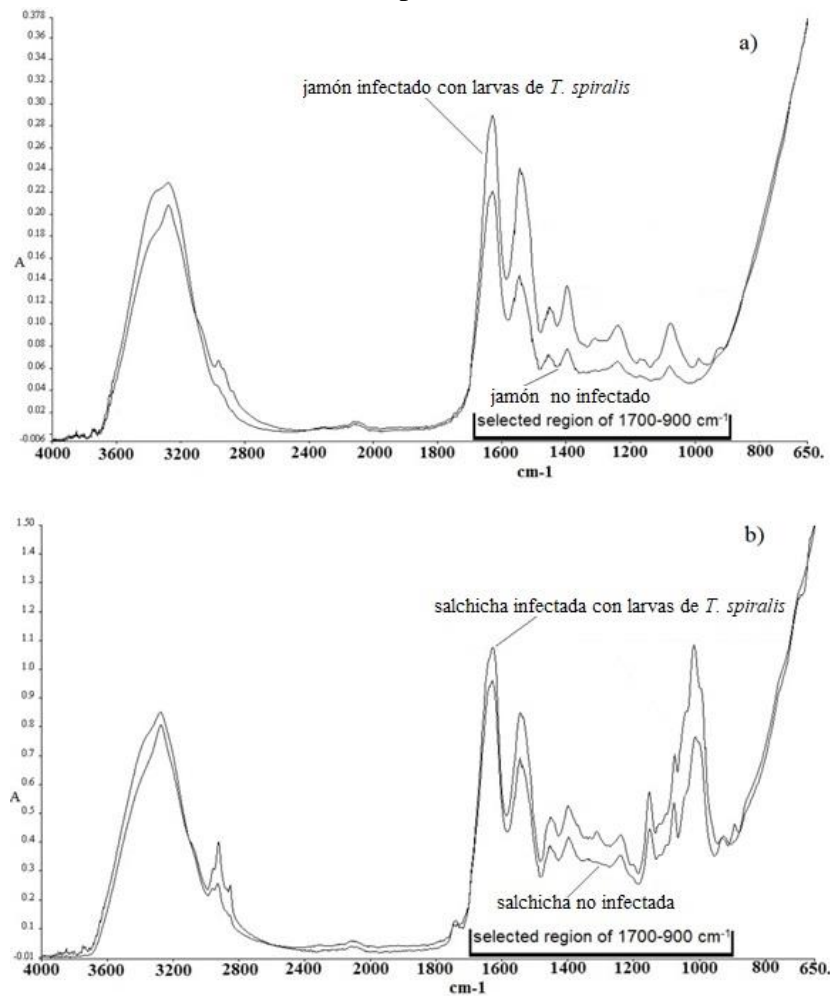
Larvas musculares de *Trichinella spiralis* teñidas con hemalum de Mayer en jamón (paneles a y b, aumento de 100x) y salchicha caseros (paneles c y d, aumento de 400x y 100x, respectivamente) preparados con carne de un cerdo infectado experimentalmente.

Detección de larvas en jamón y salchichas de cerdo mediante espectroscopia IRTF

La Figura 3 muestra los espectros IRTF de jamón (panel a) y salchicha (panel b), obtenidos con 30 muestras de cada producto de cerdo. Se observaron diferencias en el espectro entre productos de cerdo infectados y no infectados en el rango de $1,700$ a 900 cm^{-1} . Dado que cada pico en el espectro está relacionado con grupos químicos funcionales, todas las muestras biológicas tienen un espectro de “huellas dactilares” relacionado con su composición

química. El modelado independiente suave de analogías de clases (SIMCA) mostró una tasa de reconocimiento del 100 % y una tasa de rechazo del 100 %. Los espectros de jamón no infectado o salchicha no infectada se clasificaron como producto normal de carne de cerdo (100 % de reconocimiento), mientras que los espectros de jamón o salchicha infectados se rechazaron (100 %) porque la distancia interclase entre productos de cerdo no infectados e infectados fue de 10.2 para jamón y 5.2 para salchicha (Cuadro 1).

Figura 3: Espectros representativos obtenidos por MID-IRTF-RTA para la detección de larvas musculares de *Trichinella spiralis* en jamón y salchicha caseros de un cerdo infectado experimentalmente



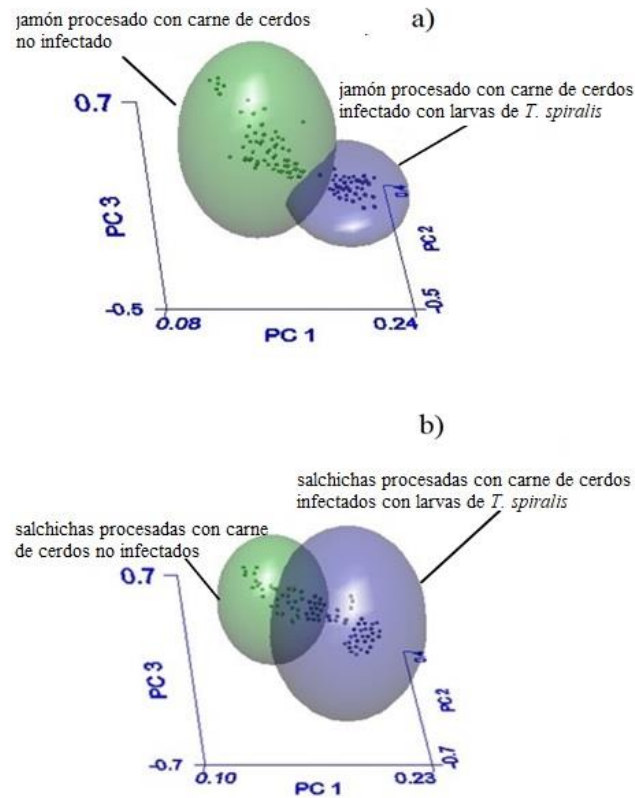
El panel (a) muestra los espectros del jamón infectado y no infectado, mientras que el panel (b) muestra los espectros de la salchicha infectada y no infectada. La absorbancia (A) se presenta como función de la longitud de onda.

Cuadro 1: Distancia interclase y porcentajes de tasas de reconocimiento y rechazo (modelo SIMCA) entre *T. spiralis*. Jamón y salchicha de cerdo infectado y no infectado

Clase	DI	Tasa de reconocimiento (%)	Tasa de rechazo (%)
Jamón infectado	10.2	100 (30/30)	100 (30/30)
Jamón no infectado			
Salchicha infectada	5.52	100 (30/30)	100 (30/30)
Salchicha no infectada			

La Figura 4 muestra el análisis tridimensional de productos porcinos no infectados e infectados. El panel (a) muestra el jamón, y el panel (b), la salchicha. La imagen tridimensional de los productos no infectados parece superponerse porque comparten en común toda la materia prima para hacer las salchichas, pero también tienen elementos que no se comparten (puntos dentro de la figura), es decir, componentes de la larva de *Trichinella*.

Figura 4: Gráficos tridimensionales de puntuación de análisis de componentes

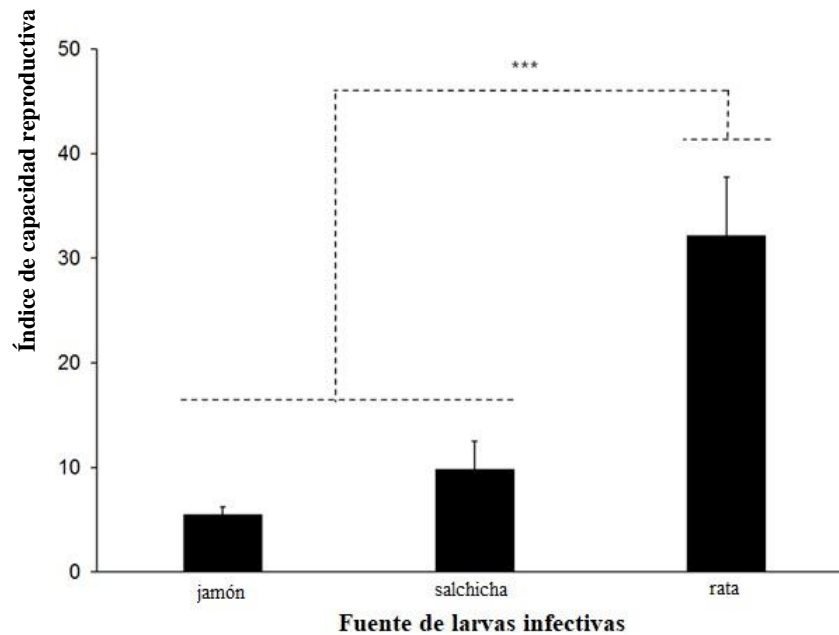


El análisis de componentes fueron generados por los modelos SIMCA optimizados para los diferentes jamones (panel a) y salchichas (panel b) infectados y no infectados con *Trichinella spiralis*

Capacidad reproductiva

Solo 2 de cada 10 (20 %) ratones a los que se administró larvas recuperadas de jamón se encontraron infectados, mientras que en el grupo al que se le dio larvas recuperadas de salchichas, 3 de cada 10 (30 %) ratones estaban infectados. La Figura 5 muestra que el índice de capacidad reproductiva (ICR) de las larvas recuperadas de jamón fue 5.5 veces menor que el de las larvas recuperadas de ratas infectadas. El ICR de las larvas recuperadas de salchicha fue 3 veces menor que el de las larvas recuperadas de ratas infectadas.

Figura 5: Comparación del índice de capacidad reproductiva de las larvas de *Trichinella spiralis* de productos de cerdo preparados con carne de un cerdo infectado experimentalmente



Las diferencias entre los grupos se evaluaron con un ANOVA unidireccional a un nivel de significancia de 0.05 seguido de la prueba de Tukey para la comparación entre grupos ($P < 0.0001$).

Discusión

Aunque la inspección sanitaria de los cerdos es obligatoria en los mataderos públicos, muchos productos se preparan a partir de cerdos de “traspatio” y luego se comercializan sin inspección sanitaria. La búsqueda de *Trichinella* en productos de cerdo es complicada porque diversas partes del cerdo se utilizan para hacer embutidos, y se sabe que estos parásitos no se distribuyen homogéneamente en las diferentes regiones anatómicas de su hospedero^(2,5); los datos aquí encontrados confirman esta observación. La carne de cerdo es una de las principales fuentes de proteína para la población mexicana; de hecho, es la segunda carne

más consumida en el país y el ingrediente principal en muchas recetas culinarias. Casualmente, las regiones con mayor demanda económica (pierna, lomo, costilla, chamorro, entre otras) son las que tienen menor carga parasitaria. Sin embargo, no hay ninguna parte anatómica del cerdo que no se explote para el consumo como alimento principal o combinada con otros elementos; las salchichas son un buen ejemplo porque generalmente se preparan con grasa, vísceras o sangre.

Dado que existen escasas alternativas para buscar parásitos en los productos de cerdo, aquí examinamos la utilidad de la espectroscopia IRTF para detectar larvas musculares de *Trichinella spiralis* en jamón y salchichas de un cerdo infectado experimentalmente. Esta técnica ya había sido probada en cerdos infectados experimentalmente con *Trichinella*⁽¹⁷⁾, y no se observó interferencia con antígenos de *Ascaris suum* o *Taenia solium*⁽¹⁶⁾; por lo tanto, el siguiente paso fue identificar la utilidad diagnóstica de la espectroscopia IRTF en productos de carne de cerdo. La espectroscopia infrarroja ya se ha aplicado con éxito para el control de calidad, detección de adulterantes y denominación de origen del vino, abejas melíferas, aceite de oliva, bebidas espirituosas y cerveza, productos lácteos, pescado, carne de res y clenbuterol, entre otros⁽²⁴⁾. Experimentos anteriores han demostrado que la espectroscopia IRTF es capaz de reconocer hasta 3 larvas de *Trichinella* en 10 g de carne con un límite de confianza del 99 %⁽¹⁶⁾.

El análisis de los datos reportados aquí sugiere que las larvas de *T. spiralis* se identificaron con éxito en productos de cerdo infectados. Los espectros de jamón y salchicha no infectados mostraron las bandas características de ácidos grasos, proteínas y glucógenos ya reportados^(25,26), y los espectros de productos de cerdo infectados fueron similares a los descritos anteriormente en carne obtenida de cerdos infectados experimentalmente⁽¹⁷⁾. En esta región, los carbohidratos, principalmente glucógeno, son el grupo químico más abundante ($1,200$ y 900 cm^{-1}) y, como punto de interés, se sabe que una vez que la *Trichinella* se establece en el músculo esquelético, la larva transforma la célula muscular en una célula nodriza, y desde esta ubicación, libera continuamente productos excretores y secretores o PES. Estos productos contribuyen a establecer el parasitismo⁽²⁷⁾ y son importantes en la inducción y modulación de la respuesta inmune del hospedero⁽²⁸⁾. Los PES contienen muchas proteínas funcionales, que son glicoproteínas, algunas de ellas con N-glicanos multiantenarios cubiertos con un monosacárido llamado tivelosa⁽²⁹⁾. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la espectroscopia IRTF podría ser una alternativa adicional a los procedimientos de inspección establecidos para el comercio de carne para consumo humano.

Anteriormente, se ha demostrado que el modelo SIMCA (modelado independiente suave de analogías de clases) es capaz de diferenciar entre *Trichinella* y otros gusanos como *Ascaris* y *Taenia*⁽¹⁶⁾. Los tres gusanos se encuentran con frecuencia en los cerdos y son transmisibles a los humanos; sin embargo, solo *Trichinella* es microscópica (1.2 mm), mientras que las otras se pueden ver a simple vista, el gusano adulto de *Ascaris* mide más de 15 cm y la larva

de *Taenia* mide al menos 0.5 cm. Por lo tanto, es deseable tener un método de diagnóstico alternativo para evitar la transmisión de *Trichinella* entre cerdos y humanos. También es deseable que estas metodologías puedan ser aplicadas en estudios epidemiológicos para conocer la prevalencia y distribución de *Trichinella*. Aunque la cantidad de producto a analizar con fines de vigilancia epidemiológica aún no se ha evaluado, aquí obtuvimos resultados con solo 5 g para cada producto de carne de cerdo.

Hasta donde se sabe, hay muchos tipos diferentes de condimentos utilizados con frecuencia para preservar y mejorar el sabor de la carne, pero hay escasos datos sobre su espectroscopia. Por lo tanto, se deben realizar más estudios para determinar si algún condimento podría tener un espectro similar al de *Trichinella*, lo que podría causar el informe de muestras “falsas positivas”. Tal estudio es significativo ya que se ha demostrado previamente que algunos condimentos no influyen en la infectividad de *Trichinella*⁽¹⁰⁾.

En contraste, el análisis de las salchichas mediante triquinoscopia y digestión artificial fue complicado debido a la interferencia con la grasa y el almidón; algunas muestras tuvieron que ser teñidas para mejorar la detección del parásito. Hasta donde se sabe, este es el primer informe en el que la tinción de hemalum de Mayer se utiliza como ayuda en la identificación y diagnóstico de *T. spiralis*. Se aprovechó el contraste entre los parásitos y el miocito no infectado para contar las larvas musculares. Las propiedades de tinción de las larvas musculares y de la célula nodriza han sido ampliamente descritas a partir de secciones histológicas teñidas con hematoxilina-eosina⁽³⁰⁾ y músculo comprimido teñido con Giemsa⁽³¹⁾. Aunque en este trabajo se tiñeron secciones de jamón y salchicha para demostrar la presencia de larvas musculares, parece que el uso de colorantes podría ser una alternativa para apoyar la búsqueda intencional de la larva en muestras de carne, donde la naturaleza del producto enmascara u oculta la presencia de parásitos.

Los resultados evidenciaron que la preparación de jamón y salchicha limita la capacidad infectiva de las larvas de *Trichinella*. Lo más probable es que casi todas las larvas mueran durante la preparación de productos de cerdo. Kotula *et al*⁽³²⁾ informaron que las larvas musculares de *Trichinella* no son infectivas en chuletas de cerdo (2.54 cm de grosor) cocidas a una temperatura interna de 66 a 77 °C en un horno convencional. Esta temperatura interna se alcanzó después de 35 a 43 minutos de cocción. Hoy en día, la Comisión Internacional de Triquinelosis reconoce la cocción como uno de los tres medios aceptables para inactivar *Trichinella*⁽³³⁾. Aquí, se coció el jamón con agua a 80 ± 1 °C durante 50 min y la salchicha a 72 ± 1 °C durante 20 min. La diferencia en el tiempo de cocción entre el jamón y la salchicha consiste en que la carne de salchicha se pre-cose durante 20 min (entre 60 y 70 °C); así, la carne no pierde consistencia ni plasticidad y la salchicha se puede montar adecuadamente. De acuerdo con recetas culinarias, para preparar el alimento, las salchichas deben tener una cocción final adicional (hervida o frita) durante 10 a 30 min; los resultados muestran que algunas larvas permanecieron vivas. Esto se puede explicar teniendo en cuenta que el calor

dentro del jamón y la salchicha no se distribuyó de manera consistente o, en el caso de la salchicha, se debe a que el tiempo de cocción fue corto. Los resultados de la capacidad infectiva muestran que el ICR obtenido con las larvas recuperadas del jamón fue inferior al obtenido con las salchichas.

Este dato es importante ya que existen varios reportes de triquinosis humana por ingestión de salchichas de cerdo^(1,34-37), convirtiendo a las salchichas de carne sin inspección sanitaria en una fuente probable de transmisión de *Trichinella*. Esta información también es importante porque, en algunos países, como México, donde la salchicha ocupa el primer lugar en la lista de consumo de embutidos en el país, seguida del jamón, el chorizo y la mortadela. En 2011, el consumo per cápita en México fue de 7.8 kg y en 2017 fue de 8.6 kg⁽³⁸⁾.

Conclusiones e implicaciones

En este estudio, se utilizó con éxito la espectroscopia IRTF para la detección de larvas musculares de *Trichinella spiralis* en productos de cerdo (jamón y salchichas) y la discriminación de productos no infectados de los infectados con el parásito. La utilidad de esta metodología podría ampliarse para detectar otros agentes etiológicos. La implementación del método para la inspección rutinaria de productos de cerdo reduciría el tiempo de análisis de la muestra (5 min), en comparación con los 10-30 min para la triquinoscopia y 1 a 3.5 h para la digestión artificial. Otras ventajas son la cantidad de muestra necesaria para el análisis, el procesamiento de la muestra sin tratamientos previos, la rápida obtención de resultados. Además, la metodología es un proceso respetuoso con el medio ambiente. Sin embargo, las limitaciones de esta metodología son el costo del equipo y la infraestructura necesaria para su operación.

Agradecimientos

Agradecemos la destacada asistencia técnica de María-Teresa Corona-Souza y Seidy Zamora-Carrillo. Dr. Guillermo Osorio-Revilla por su apoyo durante la realización de este trabajo. MSc Katia-Marleth Herrera-Aguirre y MSc Juan-Carlos Cruz-Tapia (hablantes nativos de inglés) para la revisión en inglés del manuscrito. Jorge-Luis de-la-Rosa-Arana, Vicente Vega-Sánchez y Tzayhri Gallardo-Velázquez son miembros del Sistema Nacional de Investigadores (CONACYT, México).

Conflictos de intereses

Ninguno de los autores tiene un conflicto de interés con respecto a esta publicación.

Literatura citada:

1. Ruetsch C, Delaunay P, Armengaud A, Peloux-Petiot F, Dupouy-Camet J, Vallée I, *et al.* Inadequate labeling of pork sausages prepared in Corsica causing a trichinellosis outbreak in France. *Parasite* 2016;23:27.
2. Ribicich M, Miguez M, Argibay T, Basso N, Franco A. Localization of *Trichinella spiralis* in muscles of commercial and parasitologic interest in pork. *Parasite* 2001;8(2 Suppl):S246-S248.
3. Pozio E, Pence DB, La Rosa G, Casulli A, Henke SE. *Trichinella* infection in wildlife of the southwestern United States. *J Parasitol* 2001;87(5):1208-1210.
4. Ortega-Pierres MG, Arriaga C, Yopez-Mulia L. Epidemiology of trichinellosis in Mexico, Central and South America. *Vet Parasitol* 2000;93(3-4):201-225.
5. Kapel CMO, Webster P, Gamble R. Muscle distribution of sylvatic and domestic *Trichinella* larvae in production animals and wildlife. *Vet Parasitol* 2005;132(1-2):101-105.
6. Noeckler K, Pozio E, van der Giessen J, Hill DE, Gamble HR. International Commission on Trichinellosis: Recommendations on post-harvest control of *Trichinella* in food animals. *Food Waterborne Parasitol* 2019;14:e00041.
7. Nöckler K, Pozio E, Voigt W, Heidrich J. Detection of *Trichinella* infection in food animals. *Vet Parasitol* 2000;93(3-4):335-350.
8. Konecsni K, Scheller C, Scandrett B, Buholzer P, Gajadhar A. Evaluation of the PrioCHECK™ *Trichinella* AAD Kit for the digestion and recovery of larva in pork, horse meat and wild meat. *Vet Parasitol* 2017;243:267-271.
9. Gajadhar AA, Konecsni K, Scandrett B, Buholzer P. Validation of a new commercial serine protease artificial digestion assay for the detection of *Trichinella* larvae in pork. *Food Waterborne Parasitol* 2018;10:6-13.
10. Medina-Lerena MS, Ramirez-Álvarez A, Kühne M, Gómez-Priego A, de-la-Rosa JL. Influence of different processing procedures on the reproductive capacity of *Trichinella spiralis* in pork meat. *Trop Anim Health Prod* 2009;41(4):437-442.
11. Potter ME, Kruse MB, Matthews MA, Hill RO, Martin RJ. A sausage-associated outbreak of trichinosis in Illinois. *Amer J Public Health* 1976;66(12):1194-1196.
12. Hill DE, Luchansky A, Porto-Fett A, Gamble R, Fournet VM, Hawkins-Cooper DS, *et al.* Curing conditions to inactivate *Trichinella spiralis* muscle larvae in ready-to-eat pork sausage. *Food Waterborne Parasitol* 2017;6:1-8.

13. Forbes LB, Measures L, Gajadhar A, Kapel C. Infectivity of *Trichinella nativa* in traditional northern (country) foods prepared with meat from experimentally infected seals. *J Food Prot* 2003;66(10):1857-1863.
14. Rohman A, Siswindari S, Erwanto Y, Che-Man YB. Analysis of pork adulteration in beef meatball using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Meat Sci* 2011;88(1):91–95.
15. Sari TNI, Guntarti A. Wild boar fat analysis in beef sausage using Fourier Transform Infrared method (FTIR) combined with chemometric. *Indonesian J Med Health* 2018;9(1):16-23.
16. Gómez-de-Anda F, Gallardo-Velazquez T, Osorio-Revilla G, Dorantes-Alvarez L, Calderón-Domínguez G, Noguera-Torres B, *et al.* Feasibility study for the detection of *Trichinella spiralis* in a murine model using mid-Fourier transform infrared spectroscopy (MID-FTIR) with attenuated total reflectance (ATR) and soft independent modelling of class analogies (SIMCA). *Vet Parasitol* 2012;190(3-4):496-503.
17. Gómez-de-Anda F, Dorantes-Álvarez L, Gallardo-Velazquez T, Osorio-Revilla G, Calderón-Domínguez G, Martínez-Labat P, *et al.* Determination of *Trichinella spiralis* in pig muscles using mid-Fourier transform infrared spectroscopy (MID-FTIR) with attenuated total reflectance (ATR) and soft independent modeling of class analogy (SIMCA). *Meat Sci* 2012;91(3):240-246.
18. Martínez-Fernández AR, Arribas B, Bolás F. Freezing resistance of spanish *Trichinella* isolates (*T. spiralis* and *T. britovi*). In: Gamble R, *et al* editors. *Proc Ninth Int Conf Trichinellosis*. 1rst ed. Ciudad de México, México: CINVESTAV; 1997:99-105.
19. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio.
20. Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos.
21. Norma Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2002, Productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
22. Cooper DW. The preparation of serial sections of platyhelminth parasites, with details of the materials and facilities required. *Syst Parasitol* 1988;12:211-229.

23. de-la-Rosa JL, Álvarez N., Gómez-Priego A. Study of the reproductive capacity of *Trichinella spiralis* recovered from experimentally infected mice under-dosed with albendazole or mebendazole. Trop Biomed 2007;24(2):93-97.
24. Meza-Márquez OG, Gallardo-Velázquez T, Dorantes-Álvarez L, Osorio-Revilla G, de-la-Rosa-Arana JL. FT-MIR and Raman spectroscopy coupled to multivariate analysis for the detection of clenbuterol in murine model. Analyst 2011;136:3355-3365.
25. Lewis PD, Lewis KE, Ghosal R, Bayliss S, Lloyd AJ, Wills J, *et al.* Evaluation of FTIR spectroscopy as a diagnostic tool for lung cancer using sputum. BMC Cancer 2010;10:640.
26. Rohman A, Sisindari, Erwanto Y, Che-Man YB. Analysis of pork adulteration in beef meatball using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. Meat Sci 2011;88(1):91-95.
27. Nagano I, Wu Z, Takahashi Y. Functional genes and proteins of *Trichinella* spp. Parasitol Res 2009;104(2):197-207.
28. Bruschi F, Chiumiento L. Immunomodulation in trichinellosis: does *Trichinella* really escape the host immune system?. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets 2012;12(1):4-15.
29. Morelle W, Haslam SM, Morris HR, Dell A. Characterization of the N-linked glycans of adult *Trichinella spiralis*. Mol Biochem Parasitol 2000;109(2):171-177.
30. Boonmars T, Wu Z, Nagano I, Takahashi Y. *Trichinella pseudospiralis* infection is characterized by more continuous and diffuse myopathy than *T. spiralis* infection. Parasitol Res 2005;97(1):13-20.
31. Ramírez-Melgar C, Gómez-Priego A, de-la-Rosa JL. Application of Giemsa stain for easy detection of *Trichinella spiralis* muscle larvae. Korean J Parasitol 2007;45(1):65-68.
32. Kotula AW, Murrell KD, Acosta-Stein L, Lamb L, Douglass L. Destruction of *Trichinella spiralis* during cooking. J Food Sci 1983;48(3):765-768.
33. Gamble HR, Bessonov AS, Cuperlovic K, Gajadhar AA, van-Knapen F, Noeckler K., *et al.* International Commission on Trichinellosis: recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. Vet Parasitol 2000;93(3-4):393-408.
34. Potter ME, Kruse MB, Matthews MA, Hill RO, Martin RJ. A sausage-associated outbreak of trichinosis in Illinois. Am J Public Health 1976;66(12):1194-1196.

35. Martínez-Marañón R. ¿Está aumentando la triquinosis en México? ¿Podría esto ser una consecuencia inesperada de nuestro "desarrollo"? Salud Publica Mex 1985;27(1):40-51.
36. Zamora-Chávez A, de-la-O-Cavazos ME, Bernal-Redondo RM, Berrones-Espericueta D, Vázquez-Antona C. Triquinosis aguda en niños. Brote epidémico intrafamiliar en la ciudad de México. Bol Med Hosp Infant Mex 1990;47(6):395-400.
37. Krivokapich SJ, Graciana MG, Gonzalez-Prous CL, Degese MF, Arbusti PA, Ayesa GE, et al. Detection of *Trichinella britovi* in pork sausage suspected to be implicated in a human outbreak in Mendoza, Argentina. Parasitol Int 2019;71:53-55.
38. Saldaña, M. *Aumentan mexicanos su consumo de embutidos*. EL UNIVERSAL 2018; (16/02/2018).<https://www.eluniversal.com.mx/cartera/aumentan-mexicanos-su-consumo-de-embutidos>. Consultado 12 Dic, 2020.