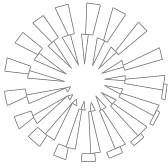


Notas de investigación

**Efecto de diferentes temperaturas (calor y frío)
en carne de cerdo sobre la viabilidad del
metacestodo de *Taenia solium***



**Effect of different temperatures (freezing and boiling)
in pork on the viability of metacestodes
of *Taenia solium***

Gabriela Nava Balderas* Ada Nelly Martínez Villalobos** Aline S. de Aluja**

Abstract

In many rural areas of Mexico, pork infected with *Taenia solium* is still being consumed, mainly because of the domiciliary slaughter of animals in villages where meat inspection does not exist. It follows that taeniasis cysticercosis continues to be an important health problem both for humans who suffer from taeniasis and neurocysticercosis and for pork producers due to the economic losses involved. In order to recommend a simple and effective method for housekeepers in rural zones to inactivate the metacestodes, infected pork cut in slices of 4 cm thickness was exposed to different temperatures and periods of time. Evagination trials were done and hamsters were infected with the treated larvae. The results show that metacestodes in pieces of pork of 4 cm thickness are innocuous after boiling them for 15 minutes or freezing them at 0° C for 96 hours or for 48 hours at -20° C, but the latter is not feasible in a rural environment. Boiling or freezing at 0° C in a domestic refrigerator is recommended as a simple procedure in marginated areas to avoid the growth of *Taenia solium* in human beings and thus interrupt the cycle of the parasite.

Key words: METACESTODES, TAENIA SOLIUM, TEMPERATURES, PORK.

Resumen

En muchas áreas rurales de México se consume la carne de cerdo infectada con el metacestodo de *Taenia solium* debido a la falta de inspección sanitaria de los animales que matan en forma clandestina o domiciliaria. Como consecuencia, la teniasis- cisticercosis constituye un problema importante de salud, tanto para la población humana que padece de teniasis y de neurocisticercosis, como para la producción porcina por las pérdidas económicas para el país. Con el objetivo de recomendar un método simple y efectivo a las amas de casa en zonas rurales y marginadas, para la destrucción de los metacestodos, se expusieron trozos de 4 cm de grosor, de carne de cerdo infectada con cisticercos, a diferentes temperaturas y durante diferentes tiempos de cocción. Se realizaron pruebas de evaginación e inoculación en hámsteres con las larvas tratadas. Con base en los resultados se recomienda la cocción de la carne infectada en trozos pequeños (4 cm de grosor) durante 15 minutos, o la congelación a 0°C por 96 horas; o bien la congelación a -20°C durante 48 horas, esta última resulta impráctica en medios rurales. La cocción y la congelación a 0°C en un refrigerador doméstico, se recomiendan como procedimiento sencillo en áreas marginales para evitar el crecimiento de *T. solium* en el humano, de esa manera se rompe el ciclo del parásito.

Palabras clave: METACESTODOS, TAENIA SOLIUM, TEMPERATURA, CARNE DE CERDO.

Recibido el 19 de agosto de 2008 y aceptado el 24 de abril de 2009.

*Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

**Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F. Teléfono: 5622 5958. Correo electrónico: aline@servidor.unam.mx

Introduction

Teniasis-cysticercosis is still an important parasitic zoonosis in Mexico. Its main cause is the lack of health education which includes personal hygiene and basic services in rural areas, where pigs roam freely in fields and streets. In spite of the fact that in dwellings letrines are obligatory, open air defecation is still frequent. As a consequence, pigs have access to human fecal matter which, when it comes from an individual infected with *Taenia solium*, causes cysticercosis in the pig. Due to ignorance, inhabitants in many towns consume pig meat with cysticerci due to the lack of sanitary meat inspection.¹

The control of this zoonosis requires educational programs so that the inhabitants become familiarized with hygiene measures needed and the importance of sanitary meat inspection.² In addition, among the measures that are implemented for the interruption of the cycle of this parasite, as of some years ago a vaccine is utilized, which is produced by the Institute of Biomedical Research of the National Autonomous University of Mexico (UNAM) by Sciutto *et al.*,³ with good results.

Among the simple physical methods used to avoid that individuals consume infected meat with cysticercus and become infected, several experiments have been carried out using heat and cold to inactivate the cysticercus.^{4,5} With respect to heat, deep frying of the meat is recommended, which is effective but not advisable⁵ on a daily basis due to its high content of fat, in addition to being a costly and laborious procedure. Other authors recommend boiling,⁵⁻⁸ but do not give precise instructions of the time needed and the size that the meat should be cut. Likewise, experiments with cold have been successful in places with freezers of -20°C where bovine carcasses are stored for several days.^{9,11} However, this procedure is not feasible to be recommended in rural or marginal communities. No references were found with precise specifications with respect to the size of the meat cuts, nor the time of exposure to different temperatures to destroy the metacestode in the meat.^{4,10} The purpose of this study is to recommend to the housekeeper in rural areas, simple and feasible techniques to destroy cysticerci in infected meat consumed in some households and break the parasite cycle.

Seven pork carcasses infected naturally with *T. solium* from rural areas where used, of which the loin and left leg were utilized. In order to use meat samples comparable to the ones used in rural areas, the meat was cut in pieces which had 15 cm in length, 8 cm wide and 4 cm depth.

Five groups (A, B, C, D, E) were formed in order to expose them to different temperatures. Group A

Introducción

La teniasis-cisticercosis sigue siendo una zoonosis parasitaria importante en México. La principal causa es la falta de educación para la salud, ésta comprende higiene personal y servicios básicos en áreas rurales, donde los cerdos deambulan libremente en campos y calles. Se exige construir letrinas en los hogares, pues la ausencia de éstas permite que las personas defequen en el suelo. Como consecuencia de lo anterior, los cerdos tienen acceso a materia fecal humana, que, cuando proviene de un portador de *Taenia solium*, causa cisticercosis en el cerdo. Por ignorancia, los habitantes en muchos pueblos consumen carne con cisticercos, que carece de inspección sanitaria y ocasiona teniasis en los humanos.¹

El control de esta zoonosis requiere programas de educación, para que la población conozca las medidas de higiene necesarias, así como la importancia de la inspección sanitaria de la carne para consumo humano.² Además, entre las medidas que se instrumentan para la interrupción del ciclo de ese parásito, desde hace algunos años se utiliza una vacuna, elaborada en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por Sciutto *et al.*,³ con buenos resultados.

Entre los métodos físicos sencillos para evitar que las personas consuman carne infectada con cisticercos y se infecten, se han realizado diferentes experimentos empleando calor o frío para inactivar al cisticercos.^{4,5} Con respecto al calor se recomienda la fritura de la carne,⁵ que si bien es eficaz no es recomendable para una dieta diaria por su alto contenido en grasa, además de ser costosa y laboriosa. Otros autores recomiendan la cocción;⁵⁻⁸ sin embargo, no mencionan instrucciones precisas del tiempo ni tamaño de la carne. Asimismo, se ha experimentado con frío, que se aplica con éxito en lugares que disponen de congeladores de -20°C, donde se colocan las canales de bovinos por varios días,⁹⁻¹¹ pero no sería factible recomendar esta tecnología en comunidades rurales o marginadas. En la búsqueda de bibliografía no se han encontrado especificaciones precisas respecto del tamaño de la carne ni del tiempo de exposición a diferentes temperaturas para destruir los metacestodos en la carne.^{4,10} El propósito de este trabajo es recomendar al ama de casa en el medio rural, técnicas sencillas y factibles para destruir los cisticercos en la carne infectada que consumen en algunos hogares y romper el ciclo de la parasitosis.

Se emplearon siete canales de cerdos de procedencia rural, infectadas de forma natural con *T. solium*; se tomaron de cada una el lomo y la pierna izquierda. Con el fin de obtener las piezas de carne comparables a las que se consumen habitualmente en el medio

was the control. The metacestods extracted from the meat samples of Group A immediately after the pig had been euthanized were stored in Petri dishes with saline solution.

Group B meat samples were stored in a freezer at -20°C and after 48 and 96 hours the cysticerci were extracted.

The groups C and D were stored in a freezer of a domestic refrigerator at 0°C and 3°C , respectively, and were processed as group B. In the samples of group D, the metacestodes still were viable and were therefore left for 144 hours.

Group E samples were cooked in water and the samples were removed 5, 10 and 15 minutes after boiling began (In the city of Mexico at 2 200 masl, water boils at 80°C). The freezing temperatures were adjusted from references cited^{4,9} and boiling times (Group E) from personal experiences.

Biological tests

Evagination trials

Once the meat samples were thawed or cooled after freezing or boiling, the cysticerci were carefully dissected in order not to harm the membrane of the cyst. They were washed twice with saline solution at 0.85%, were placed in a Petri dish with saline solution and pig bile was added at 10% and incubated for 24 hours at 37°C in an incubator.* The live metacestodes, those in which the escolex evaginated, were counted.^{7,8}

Hamster inoculation

In order to corroborate that the cestodes of the groups that had not evaginated did not develop the tenia in the small intestine, seventeen hamsters were utilized. Each one received three cysticerci orally from Groups A, B, C, D and E. Considering the results obtained in the evagination trials, two hamsters for Group A, one each for Group B, C and D and 12 for Group E were used. The reason to utilize the majority of the hamsters in Group E was that when the evagination trial was performed, it was observed that some metacestodes had evaginated when boiled for 5 and 10 minutes and none for 15 minutes (Table 1). In addition, in the majority of the households in rural communities, boiling is the most common method to prepare pork. Thirty days after the oral inoculation, the hamsters were euthanized and the small intestine was opened longitudinally to observe its contents and seek development of tenia.

Table 1 shows the results of the evagination trials of the metacestodes after the different treatments. The number of metacestodes obtained from each

rural, se cortaron rebanadas de carne de 15 cm de largo por 8 cm de ancho y 4 cm de grosor.

Se formaron cinco Grupos: A, B, C, D y E, para exponerlos a diferentes temperaturas. El Grupo A fue el testigo, las muestras de carne cuyos metacestodos se extrajeron inmediatamente después de la muerte de los animales, se colocaron en una caja de Petri con solución salina.

Las rebanadas de carne del Grupo B se colocaron en un congelador a -20°C , después de 48 y 96 horas se extrajeron los cisticercos.

Las rebanadas de carne de los Grupos C y D se colocaron en el compartimiento de congelación de un refrigerador doméstico a 0°C y 3°C , respectivamente, y se siguió el mismo procedimiento para el Grupo B.

Las muestras del Grupo D se dejaron hasta 144 horas, pues los metacestodos aún estaban viables.

Las rebanadas del Grupo E se colocaron en forma extendida en un recipiente con abundante agua y se hirvieron; las muestras de carne se retiraron a los 5, 10 y 15 minutos después del inicio de ebullición, para las pruebas biológicas. (A 2 200 msnm como en la Ciudad de México, el agua hierve a los 80°C). Los tiempos para la congelación se basan en datos referidos en la literatura con canales completas,^{4,9} y la de cocción en experiencias personales no publicadas.

Pruebas biológicas

Evaginación

Al descongelar y enfriar los trozos de carne sometidos a los diferentes tratamientos (congelación y cocción), se les extrajeron los cisticercos mediante disección, se evitó lesionar la membrana propia del quiste. Se lavaron dos veces en solución salina a 0.85%, se colocaron en una caja de Petri en solución salina, se agregó bilis de cerdo al 10% y se incubó durante 24 horas a 37°C en una estufa de cultivo.* Luego se contaron los metacestodos vivos, es decir, aquellos en que el escólex evaginó.^{7,8}

Inoculación en hámsteres

De 17 hámsteres, a cada uno se le administró por vía oral tres cisticercos de los Grupos A, B, C, D y E; con el fin de comprobar que los metacestodos de los grupos que no habían evaginado no desarrollarían la tenia en el intestino delgado. De acuerdo con los resultados de la evaginación, se usaron dos hámsteres para el Grupo A, uno para los grupos B, C y D, y 12 para el Grupo E. La razón para utilizar la mayoría de hámsteres del Grupo E, fue que la prueba de evaginación indicó

*Marca Riosa, modelo EC-41

treatment was variable, since the pork carcasses utilized were naturally infected and the number of metacestodos varied in each meat sample. Freezing at -20°C killed all larvae after 48 hours of exposure (Group B), at 0°C in a domestic refrigerator one of 28 evaginated after 48 hours, but none of 29 after 96 hours (Group C). No effect was observed in the refrigerated larvae at 3°C , which is the average temperature in domestic refrigerators, after 48, 96 and 144 hours (6 days)(Group D). It is important to note that, after 144 hours in Group D, the meat had entered a state of decomposition with bad odor, soft and greenish color, but even so the metacestodos remained alive. After 15 minutes of boiling (80°C), none of the 85 metacestodos evaginated (Group E).

Table 2 shows the results of the oral inoculation of metacestodos in hamsters. It can be observed that freezing at -20°C coincides with the result obtained with the evagination trail (Table 1) since no inoculated metacestodes in the hamster developed into tenia. It was observed that cysticerci are very susceptible to heat, since after 5 minutes of boiling only one of the 12 cysticerci inoculated to four hamsters developed into tenia and if boiled for 10 or 15 minutes no parasites were found in the eight hamsters that were inoculated. Even if there was no development of tenia with 10 minutes boiling it is recommended that boiling

que a los 15 minutos de cocción los cisticercos estaban muertos; pero algunos metacestodos evaginaron a los 5 y 10 minutos de cocción (Cuadro 1), además de que en la mayoría de los hogares en las comunidades rurales la cocción es el método más usado para preparar la carne. Treinta días después de la inoculación oral, se aplicó la eutanasia a los hámsteres y se obtuvo el intestino delgado, éste se abrió longitudinalmente para observar el contenido y buscar las tenias desarrolladas.

En el Cuadro 1 se observa el resultado de las pruebas de evaginación de los metacestodos después de diferentes tratamientos, además se aprecia que el número de metacestodos obtenido es variable, debido a que las canales de los animales utilizados se infectaron con diferentes dosis de huevos en forma natural y el número de metacestodos varía en cada trozo de carne. La congelación a -20°C mata a todas las larvas después de 48 horas (Grupo B), mientras que a 0°C en un refrigerador doméstico evaginó 1 de 28 a las 48 horas y ninguno de 29 a las 96 horas (Grupo C). No se observó ningún efecto en las larvas refrigeradas a 3°C , la temperatura usual en estos aparatos, durante las 48, 96 y 144 horas (Grupo D). Es importante destacar que a las 144 horas (seis días) la carne ya estaba descompuesta, con mal olor, blanda y de color verdoso, a pesar de ello los metacestodos permanecieron vivos.

Cuadro 1
EVAGINACIÓN DE METACESTODOS EXPUESTOS A DIFERENTES
TEMPERATURAS Y TIEMPOS DE EXPOSICIÓN
EVAGINATION OF METACESTODES EXPOSED TO DIFFERENT
TEMPERATURES AND EXPOSURE TIMES

<i>Group</i>	<i>Time after necropsy</i>	<i>Num of larvae</i>	<i>Num of evagination</i>	<i>% of evagination</i>
A				
Control	Immediate	285	192	67.36%
B	48 h	50	0	0
-20°C	96 h	130	0	0
C	48 h	28	1	3.57%
0°C	96 h	29	0	0
D	48 h	88	73	83%
3°C	96 h	135	65	48%
	144 h	57	37	64%
E	5 '	20	6	30%
80°C	10'	47	2	4.25%
	15 '	85	0	0

should be of 15 minutes, since in the evagination trial, 4.25% of the cysticerci evaginated after 10 minutes of boiling.

It is very important to state that special care was taken to secure that all meat samples had cysticerci. It was also observed that in bigger pieces of meat in which the temperature did not reach the center part, the cysticerci remained alive. Similar results were mentioned by Thornton,⁷ when he introduced a leg of pork in the oven and he proved that the metacestodes in the center were viable. Hilwig *et al.*⁸ recommend the freezing of bovine meat infected with cysticerci of *T. saginata* to kill them, with the advantage that the organoleptic characteristics of the product do not change. Sotelo *et al.*¹¹ inform that exposing meat with metacestodes of *T. solium* to temperatures between 4°C and 11°C do not affect the parasite. However, when temperatures range from -5°C, -15°C and -24°C for periods of 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10 or 15 days the parasites die. The latter results are similar to those found in this study.

Based on the results of the present study, in order for pork meat to become innocuous the following is recommended: cut the meat in pieces of 4 cm thick and boil them for 15 minutes after boiling has started, or freezing at 0°C in a domestic refrigerator for 96 hours (4 days) or freezing at -20°C for 48 hours (2 days).

Después de 15 minutos de cocción (80°C) ninguno de los 85 metacestodos evaginó (Grupo E).

En el Cuadro 2 se observa que la congelación a -20°C concuerda con el resultado de la evaginación: ninguno de los metacestodos inoculados en el hámster se transformó en tenia. Se observó que los cisticercos son susceptibles al calor, ya que a los 5 min de cocción, de 12 cisticercos inoculados a cuatro hámsteres sólo uno desarrolló la tenia, y que a los 10 y 15 minutos de cocción, en ninguno de los ocho hámsteres inoculados se encontró el parásito. Aun cuando no hubo desarrollo en hámsteres a los 10 minutos de cocción, se recomienda que el tiempo de cocción sea de 15 minutos, pues en la prueba de evaginación, 4.25% de los cisticercos evaginaron después de 10 minutos de cocción.

Es muy importante señalar que se tuvo especial cuidado en que se encontraran cisticercos en todos los trozos de carne cortados en trozos de 4 cm de grosor. También se observó que en los trozos de carne más gruesos, en los que las temperaturas no llegan al centro de aquéllos, los cisticercos permanecen vivos. Resultados similares señaló Thornton,⁷ cuando introdujo una pierna de cerdo en un horno para su cocción; comprobó que los metacestodos localizados en el centro de la pieza de carne eran viables. Asimismo, Hilwig *et al.*⁸ recomiendan la congelación de carne de bovino

Cuadro 2
RESULTADOS DE LA INOCULACIÓN EN HÁMSTERES CON METACESTODOS
TRATADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS
INOCULATION OF HAMSTERS WITH METACESTODES
TREATED AT DIFFERENT TEMPERATURES

Group		No. of hamsters	Growth of tenias	
			No. of tenias	%
A				
Control		1	1	33.3%
		1	3	100%
B				
−20°C	48 h	1	0	0
C				
0°C	48 h	1	0	0
D				
3°C	48 h	1	2	86.6%
E				
80°C	5'	4	1	8.3%
	10'	4	0	0
	15'	4	0	0

Hamsters were inoculated orally with 3 cysticercs each.

Acknowledgements

Special thanks to Conacyt for the financial support provided for this project number 35418-B and PAPIIT-UNAM for the provided through project number IN206301.

The authors thank Mr. Aureliano Garcia Torres for his support during the necropsies of the pigs and Mr. Virgilio Nava Anguiano for the care of the pigs and hamsters. Special acknowledgement for the advise in the statistical analysis and other suggestions made by Dr. Jose Juan Martinez Maya.

Referencias

1. ALUJA A S DE. La cisticercosis porcina en México. En: LARRALDE C, S DE ALUJA A, (coords). Cisticercosis. Guía para profesionales de la Salud. México DF: Fondo de Cultura Económica, 2006:104-132.
2. LARRALDE C, SCIUTTO E. El control de la *Taenia solium* en México, quinientos años después de su llegada al Nuevo Mundo. En: LARRALDE C, S DE ALUJA A, (coords). Cisticercosis. Guía para profesionales de la Salud. México DF: Fondo de Cultura Económica, 2006:182-237.
3. SCIUTTO E, FRAGOSO G, LARRALDE C. Vacunas contra la cisticercosis. En: LARRALDE C, S DE ALUJA A, (coords). Cisticercosis. Guía para profesionales de la Salud. México DF: Fondo de Cultura Económica. 2006:167-181.
4. GEMMEL ML, MATYAZS Z, PAWLOWSKI Z., SOULSBY L, LARRALDE C, NELSON GS. *et al.*, editors. Guidelines for Surveillance Prevention and Control of Taeniasis/Cysticercosis. VPH/ 83.49. Geneve, Switzerland: World Health Organization, 1985: 207.
5. SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y DESARROLLO RURAL. Norma Oficial Mexicana. NOM – 030 – ZOO - 1995. Especificaciones y procedimientos para la verificación de carnes, canales, vísceras y despojos de importación en puntos de verificación zoosanitaria. 17/04/1996.
6. RODRIGUEZ-CANUL R, ARGAEZ-RODRIGUEZ F, PACHECO DE LA GALA D, VILLEGAS PÉREZ S, FRASER A, CRAIG PS *et al.* *Taenia solium* metacestode viability in infected pork preparation with SALT pickling or cooking methods common in Yucatan, Mexico. J Food Prot 2022;65:666-669.
7. THORNTON H. Textbook of Meat Inspection. 5a ed. London: Baillière, Tyndall and Cassell, 1968.

infectada con *T. saginata*, para matar dichos parásitos, con la ventaja de que no se modifican las características organolépticas de este producto. Sotelo *et al.*¹¹ informan que al exponer carne con metacestodo de *T. solium* entre 11°C y 4°C no se afecta al parásito; sin embargo, empleando rangos de temperaturas de -5°C, -15°C y -24°C por periodos de 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10 o 15 días ya los afecta y causan su muerte; estos resultados son similares a los obtenidos aquí.

De acuerdo con los resultados del presente estudio para volver inocua la carne de cerdo infectada con cisticercos se recomienda cortar en trozos pequeños, aproximadamente de 4 cm de grosor, la cocción durante 15 minutos después del punto de ebullición, la congelación a 0°C en un refrigerador doméstico durante 96 horas (cuatro días) y la congelación a -20°C durante 48 horas (dos días).

Agradecimientos

Se agradece el financiamiento otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, de México, para el proyecto de investigación con referencia 35418-B; y al PAPIT la beca del proyecto número IN206301.

Las autoras agradecen a Aureliano García Torres su apoyo en las necropsias de los cerdos, así como a Virgilio Nava Anguiano por el cuidado de los cerdos y de los hámsteres. Se agradece de manera especial al Dr. José Juan Martínez Maya su ayuda y asesoramiento en el análisis estadístico y por las sugerencias a este trabajo.

8. HILWIG RW, CRAMER JD, FORSYTH KS. Freezing times and temperatures required to kill cysticerci of *Taenia saginata* in beef. Vet Parasitol 1978;4:215-219.
9. FUENTES PB, NEGRETE MJ, VILLALOBOS PR. Algunos factores físicos y químicos que afectan la evaginación de *Cisticercos cellulosae in vitro*. Rev Inst Salubr Enferm Trop Mex 1960;20:103 – 128.
10. FLISSER A, AVIDAN Y, LAITER S, MINTZ D, ONGAY H. Efectos de agentes físicos y químicos sobre la viabilidad del cisticerco de *Taenia solium*. Salud Pública de México. 1986;28:551 – 555.
11. SOTELO J, ROSAS N, PALENCIA G. Freezing of infested pork muscle kills cysticerci. JAMA 1986;256:893 – 894.