



Triquina: Novedades legislativas. Ejercicios de Intercomparación Centro Nacional de Alimentación (CNA)



María Jesús Zamora Escribano

Servicio de Microbiología Alimentaria-Centro Nacional de Alimentación

Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición



Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de marzo de 2017, relativo a los controles y otras actividades oficiales realizados para garantizar la aplicación de la legislación sobre alimentos y piensos, y de las normas sobre salud y bienestar de los animales, sanidad vegetal y productos fitosanitarios, y por el que se modifican los Reglamentos.

Quedan derogados entre otros documentos los Reglamentos (CE) n.o 854/2004 y (CE) n.o **882/2004** con efectos a partir del 14 de diciembre de 2019.



Excepciones a la condición de acreditación obligatoria para determinados laboratorios oficiales

a los laboratorios: cuya **única actividad** consista en la detección de triquinas en la carne;

- ❖ que solo utilicen para la detección de triquinas los métodos a que se refiere el artículo 6 del Reglamento de Ejecución (UE) 2015/1375 de la Comisión (1)
- ❖ que efectúen la detección de triquinas bajo la supervisión de las autoridades competentes o de un laboratorio oficial designado de conformidad con el artículo 37, apartado 1, y acreditado de acuerdo con la norma EN ISO/IEC 17025 para la utilización de los métodos contemplados en el inciso ii) de la presente letra,
- ❖ que participen **regularmente** y con resultados satisfactorios en los ensayos interlaboratorios comparados o en los ensayos de aptitud organizados por los laboratorios nacionales de referencia para los métodos que los laboratorios oficiales utilicen para la detección de triquinas.

Artículo 40 del Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de marzo de 2017.



Métodos utilizados para el muestreo, los análisis, los ensayos y los diagnósticos, Los métodos de muestreo, así como los de análisis, ensayo y diagnóstico de laboratorio, utilizados durante los controles oficiales y otras actividades oficiales cumplirán la normativa de la Unión por la que se establecen dichos métodos o los criterios de funcionamiento de dichos métodos. -Artículo 34 (Obligaciones de los laboratorios oficiales) del Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo-



Método detección de triquina Reglamento de Ejecución (UE) 2015/1375

Métodos de detección

Únicamente se pueden utilizar los métodos de detección que se establecen en los capítulos I y II del anexo I para analizar las muestras con indicios de infestación por triquinas.

Capítulo I : Método de referencia

Método de digestión de muestras colectivas con utilización de un agitador magnético

Capítulo II: Métodos equivalentes

Recoge cinco métodos de digestión de muestras.

Son métodos que se basan en la liberación de las larvas de triquina de sus quistes musculares mediante una digestión artificial con ácido clorhídrico y pepsina, y la posterior visualización microscópica de las larvas libres en el sedimento obtenido (látex).

Todas las muestras positivas se remitirán al laboratorio nacional o de la UE de referencia para que este determine las especies de *Trichinella* implicadas.



A petición del laboratorio de referencia de la Unión Europea o del laboratorio nacional de referencia, los laboratorios oficiales participarán en ensayos interlaboratorios comparados o en ensayos de aptitud organizados para los análisis, ensayos o diagnósticos que realicen en su calidad de laboratorios oficiales. -Artículo 38 (Obligaciones de los laboratorios oficiales) del Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo-

Los laboratorios nacionales de referencia, en su ámbito de competencia, cuando proceda, organizarán ensayos interlaboratorios comparados o ensayos de aptitud entre los laboratorios oficiales, garantizarán un seguimiento apropiado de dichos ensayos e informarán a las autoridades competentes de los resultados de dichos controles y seguimiento. -Artículo 101.1 del Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de marzo de 2017-

- I Noviembre 2010
- II Noviembre 2011
- III Noviembre 2012
- IV Noviembre 2013
- V Noviembre 2014
- VI Noviembre 2015
- VII Noviembre 2016
- VIII Año 2017 (previsto octubre)



Photo : Rosario Calderón

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Total participantes	24	24	27	29	29	31	32
Resultados satisfactorios	62.5%	83.3%	85.2%	89.7%	100%	87,1%	70.2%

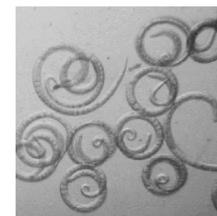


Discos de 8 mm de diámetro
(concentración de 1,5% de agar)

100g

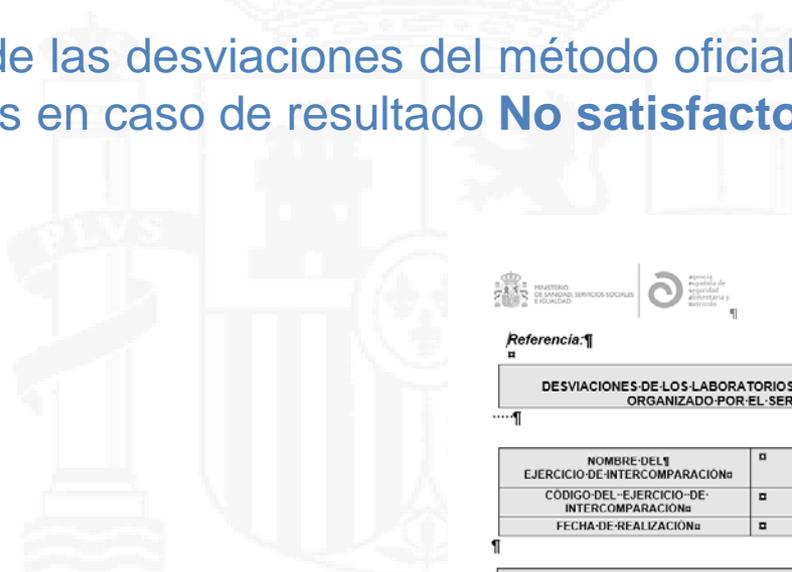
- Las larvas se cuentan y se lavan en PBS sobre discos de agar (se cuentan utilizando un estereomicroscopio).
- Los discos de agar junto a las larvas se introducen en el interior de los 100 g de carne picada.
- Las muestras preparadas se envasan al vacío y se rotulan.

El disco de agar no es digerido durante la digestión, por lo que aparece como un residuo sólido sobre el tamiz, sin que ello interfiera en los resultados analíticos.



Uno de los objetivos del Ejercicio de Intercomparación organizados por AECOSAN/CNA es comprobar que los laboratorios de la red de laboratorios de Control Oficial, aplican el método de referencia realizando los ensayos de manera correcta en todas sus etapas.

Seguimiento de las desviaciones del método oficial y envío de formulario de desviaciones en caso de resultado **No satisfactorio**.






Centro Nacional de Alimentación

Referencia:

DESVIACIONES-DE-LOS-LABORATORIOS-PARTICIPANTES-EN-EL-EJERCICIO-DE-INTERCOMPARACION-ORGANIZADO-POR-EL-SERVICIO-MICROBIOLOGIA-ALIMENTARIA-DEL-CNA

NOMBRE-DEL-EJERCICIO-DE-INTERCOMPARACION	<input type="text"/>
CÓDIGO-DEL-EJERCICIO-DE-INTERCOMPARACION	<input type="text"/>
FECHA-DE-REALIZACION	<input type="text"/>

IDENTIFICACIÓN-DEL-LABORATORIO-PARTICIPANTE

Nombre del Laboratorio	<input type="text"/>
Código de laboratorio	<input type="text"/>
Responsable	<input type="text"/>
TIPO-DE-DISCREPANCIAS	<input type="checkbox"/> Resultados no aceptables <input type="checkbox"/> No se han seguido las instrucciones del ejercicio de intercomparación <input type="checkbox"/> Desviaciones al método de ensayo /norma <input type="checkbox"/>

DESVIACIONES-DETECTADAS

La evaluación del ejercicio de intercomparación ➡ resultado **cualitativo**.

Según las directrices del documento “Reports on the Proficiency Testings for *Trichinella* spp. organised by the EURLP for the NRLs, March 2014”, se establece.

- Para muestras que contengan entre 4-5 larvas, se considera **aceptable** la detección de un mínimo de **dos** larvas. En caso de sobrestimar el número de larvas, se acepta un máximo de dos larvas por encima de número real de larvas cargadas.

Según se establece en el documento “Guidelines for the detection of *Trichinella* larvae at the slaughterhouse in a quality assurance system”, se establece:

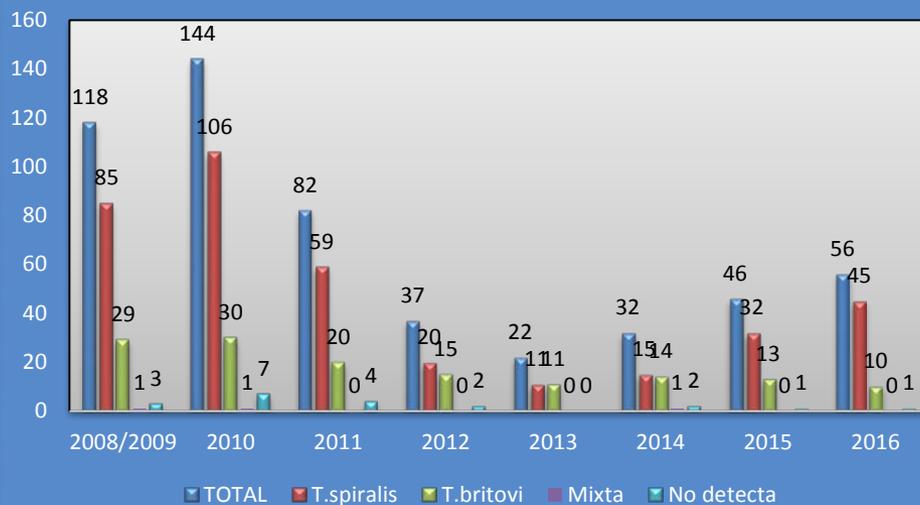
- Para muestras que contengan más de 6-10/11-20 larvas, se debería recuperar como mínimo el 75 % de las larvas.

Guidelines for the detection of *Trichinella* larvae at the slaughterhouse in a quality assurance system LR UE Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy.

1. Identificación de *Trichinella*
2. Tipificación molecular de especies de *Trichinella*

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Jabalíes	125	74	38	22	38	50	56	50
Cerdos	3	6	3	0	0	0	0	1
Larvas	1	3	2	0	0	0	0	0
TOTAL	129	85	43	22	38	50	56	51

DATOS DE ESPECIES DE TRIQUINA



Identificación de larvas de *Trichinella* a nivel de especie por Multiplex PCR

Pozio, E., La Rosa, G. 2003. PCR-derived methods for the identification of *Trichinella* parasites from animal and human samples methods in Molecular Biology. 216, 299 - 309

Triquinelosis en España en los últimos cinco años

AÑO	Nº DE BROTES	CASOS HUMANOS
2010	2	17
2011	3	33
2012	2	23
2013	2	29
2014	1	4
2015	2	12

Fuente: Centro Nacional de Epidemiología



5. ENSAYOS DE INTERCOMPARACIÓN

MICROBIOLOGÍA ALIMENTARIA				
ANALITO	MATRICES	MÉTODO	FECHA REALIZACIÓN	OBSERVACIONES
Detección de triquina	Carne	Método de digestión enzimática	Octubre	2ª Quincena
Detección de Anisakis	Pescado	Método de digestión enzimática	Octubre	2ª Quincena
Investigación de Salmonella spp y recuento de E.coli por NMP en moluscos	Moluscos	Recuento NMP E.coli ISO 16649-3 Detección Salmonella spp ISO 6579	Junio 2017	26-06-2017
Investigación de Listeria monocytogenes	Salmón ahumado	Investigación de Listeria monocytogenes ISO 11290-1	Sept 2017	03-07-2017
Recuento de aerobios a 30°C en leche	Leche	Recuento de aerobios a 30°C en leche ISO 4833	Jun 2017 Sept 2017	18-09-2017
Investigación de toxina estafilocócica	Postre lácteo	Método de Referencia LR UE detección enterotoxinas estafilocócicas	Jun 2017	19-06-2017
Residuos de antibióticos	Comprimidos de antibióticos	Cribado 5 placas	Noviembre	Ensayo 69-AN-17
Residuos de antibióticos	Discos de antibióticos	Post-cribado Bioensayo Múltiple	Diciembre	Ensayo 70-AN-17



Publicación (16-05-2017) de la Norma ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 1: Detection method.

Curso práctico para la detección de enterotoxinas estafilocócicas en alimentos, fecha prevista para la segunda quincena de octubre de 2017.

Residuos de antibióticos  Screening químico.

Buzón de microbiología microbiologia-cna@mssi.es

E-ROOM



Gracias por vuestra atención