



Guía europea sobre los principios de buenas prácticas

para

la clasificación y el control microbiológicos

de las zonas de producción y reinstalación de moluscos bivalvos

conforme al Reglamento (CE) nº 854/2004

Revisiones anteriores

Edición	Fecha de expedición	Cambios
1	1 de junio de 2012	
2	13 de enero de 2014	Anexo 2 nuevo, que trata sobre los requisitos para las zonas autorizadas para la exportación a los Estados Unidos
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		

ÍNDICE

Secciones		Página
	GLOSARIO	4
1	INTRODUCCIÓN GENERAL	8
2	ESTUDIOS SANITARIOS	12
3	IMPLANTACIÓN Y REGISTRO DE PLANES DE MUESTREO	20
4	MUESTREO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS	23
5	PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS	28
6	TRATAMIENTO Y ALMACENAMIENTO DE LOS DATOS	30
7	INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS DEL PROGRAMA DE CONTROL	31
8	RESUMEN	39
9	REFERENCIAS	39
10	ANEXO 1. FRECUENCIAS, PERÍODOS, ETC.	41
11	ANEXO 2. REQUISITOS ADICIONALES PARA LAS ZONAS DE PRODUCCIÓN EN LAS QUE SE RECOLECTAN MOLUSCOS BIVALVOS VIVOS PARA SU EXPORTACIÓN A LOS ESTADOS UNIDOS	42
Cuadros		
Cuadro 1	Criterios para la clasificación de las zonas de recolección de moluscos bivalvos	9
Cuadro 2	Ejemplo de formulario de muestreo	25
Figuras		
Figura 1	Esquema general de los pasos básicos del programa de control oficial de los moluscos bivalvos	11
Figura 2	Estudio sanitario: estudio sanitario inicial y elaboración del plan de muestreo	14
Figura 3	Revisión del estudio sanitario y del plan de muestreo	19
Figura 4	Interpretación de los datos para la clasificación de las zonas de recolección	34
Figura 5	Procedimientos de control de alerta (ejemplo de diagrama de flujos)	38

GLOSARIO

Acuicultura	Cría o cultivo de organismos acuáticos con técnicas encaminadas a aumentar, por encima de las capacidades naturales del medio, la producción de los organismos en cuestión; estos serán, a lo largo de toda la fase de cría o de cultivo y hasta el momento de su recogida, propiedad de una persona física o jurídica (CE 2792/99) ¹ .
Aguas residuales	Líquido que está o ha estado en un sistema de alcantarillado. Está constituido por los residuos que transporta el agua, que provienen de fuentes domésticas, comerciales e industriales, junto con el agua de lluvia procedente del subsuelo y de las aguas superficiales ² .
Alcantarilla	Conducto para el transporte de aguas residuales ² .
Alcantarillado	Sistema de alcantarillas interconectadas, que a menudo incorporan estaciones de bombeo intermedias ² .
Área remota	Zona que no está sujeta al impacto de ninguna fuente de contaminación fecal de origen humano o animal, en la que los datos de control se mantienen estables ² .
Autoridad competente	Autoridad central de un Estado miembro encargada de la organización de los controles oficiales, u otra autoridad a la que ha sido transferido tal cometido; incluye, cuando procede, la autoridad correspondiente de un tercer país ¹ .
Carne y líquido intervalvar	Cuerpo de un molusco bivalvo junto con el líquido que contienen las conchas cuando el animal está totalmente cerrado fuera del agua ² .
Clasificación (establecida)	Clasificación oficial basada en los resultados de un gran número de muestreos realizados con el fin de garantizar que quede totalmente cubierta toda variabilidad estacional o anual ² .
Clasificación (inicial)	Clasificación oficial basada en los resultados de un número limitado de muestreos ² .
Clasificación de las zonas de recolección de moluscos bivalvos	Clasificación de las zonas de recolección, según un programa oficial que determina el grado de contaminación microbiológica de las zonas de producción y de reinstalación. Los requisitos se presentan en el capítulo II del anexo II del Reglamento (CE) nº 854/2004 ² .
Coliforme	Bacteria facultativa, anaerobia, gram negativa, que tiene forma de bastoncillo y fermenta la lactosa para producir ácido y gas a 37 °C. Los miembros de este grupo viven normalmente en el intestino de los animales de sangre caliente, pero también pueden encontrarse en el medio ambiente (por ejemplo, en el suelo y en el material vegetal) ² .
Coliforme fecal	Bacteria facultativa, aerobia, gram negativa, citocromo oxidasa negativa, que tiene forma de bastoncillo, no forma esporas y fermenta la lactosa produciendo gas en presencia de sales biliares u otros

¹ Definición de la legislación de la UE.

² Definición complementaria.

	agentes tensoactivos que tengan propiedades de inhibición del crecimiento similares, a 44 °C ± 0,2 °C en 24 h como mínimo ^{1,3} .
Control a corto plazo	Medidas de control que se adoptan para reducir o neutralizar todo aumento del riesgo para la salud pública que pueda resultar del aumento temporal de la contaminación en las zonas de recolección. Estos controles pueden conllevar la prohibición de la recolección, la reclasificación temporal de la zona o el aumento en la intensidad del tratamiento, sin reclasificación. Las medidas de control deben abordar cualquier riesgo para la salud pública (por ejemplo, a causa de los patógenos de las aguas residuales) y no solo los indicadores bacterianos que se utilizan con fines de seguimiento ² .
Control oficial	Toda forma de control que efectúe la autoridad competente o la Unión Europea para verificar el cumplimiento de la legislación sobre piensos y alimentos, así como las normas relativas a la salud animal y el bienestar de los animales ¹ .
Desbordamiento de emergencia	Sistema que permite la descarga de aguas residuales (normalmente crudas) de un sistema de alcantarillado o de las estaciones depuradoras de aguas residuales en caso de producirse un fallo en el equipo ² .
Desbordamiento de alcantarillados combinados	Sistema que permite la descarga de aguas residuales (normalmente crudas pero diluidas) de un sistema de alcantarillado después de las lluvias torrenciales. Este sistema desvía un gran caudal de las alcantarillas o de las estaciones depuradoras a las que conduce el alcantarillado y, por tanto, evita la sobrecarga de las estaciones, la inundación de propiedades, etc. ² .
Estudio bacteriológico	Control a corto plazo que se lleva a cabo para ayudar a identificar la localización de los sitios de muestreo que se utilizarán en el programa de control de la clasificación. Normalmente, se realiza en un número de sitios mayor que el que se utiliza en el programa en continuo ² .
Estudio de la costa	Estudio físico de la costa y de las zonas adyacentes a la zona de recolección para confirmar la presencia de fuentes potencialmente contaminantes que se han identificado en los estudios documentales, y para identificar otras posibles fuentes de contaminación ² .
Estudio sanitario	Evaluación de las fuentes de contaminación fecal dentro de una zona de recolección o en sus proximidades, y del impacto que pueden tener sobre el estado microbiano de la zona de recolección ² .
<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	Coliforme fecal que produce indol a partir del triptófano a 44 °C ± 0,2 °C en 24 horas ^{1,4} .
Estaciones depuradoras de aguas residuales	Instalaciones para el tratamiento de aguas residuales procedentes de dependencias domésticas y comerciales. También se les denomina plantas de tratamiento de aguas residuales ² .

³ Normalmente (pero no exclusivamente), está asociada al intestino de los animales de sangre caliente y de las aves.

⁴ *E. coli* pertenece al grupo de los coliformes fecales. Está más específicamente asociada al intestino de los animales de sangre caliente y de las aves que otros miembros del grupo de los coliformes fecales. En el método de referencia, la actividad de β-glucuronidasa determina el resultado positivo de un ensayo de *E. coli*.

Modelos de transporte de partículas	En el contexto de esta guía, los modelos de transporte de partículas muestran la difusión (propagación) de las sustancias disueltas o en suspensión en el agua del mar. Estos métodos pueden utilizarse para simular concentraciones bacterianas ² .
Modelos hidrodinámicos	En el contexto de esta guía, son modelos numéricos que proporcionan aproximaciones del flujo (velocidad y profundidad) de las aguas residuales en función del espacio y del tiempo. Los resultados de estos modelos pueden utilizarse, junto con una interpretación de los procesos de difusión en la columna de agua (véanse más adelante los modelos de transporte de partículas), para simular el destino y la dispersión de las bacterias ² .
Moluscos bivalvos	Moluscos lamelibranquios que se alimentan por filtración y, por extensión, equinodermos, tunicados y gasterópodos marinos ^{1,5} .
Muestreador / funcionario muestreador	En el contexto de esta guía, el muestreador es una persona que toma muestras de moluscos bivalvos de una zona de recolección (o de un lote de recolección) con el fin de realizar las pruebas de control oficial que establece el Reglamento (CE) nº 854/2004. El muestreador es contratado directamente por la autoridad competente o por otro organismo de control en el que se haya delegado la responsabilidad de realizar los muestreos del control oficial ² .
Norovirus	Virus ARN estructurados pequeños (de 27 a 32 nm), que constituyen la causa más frecuente de gastroenteritis no bacteriana. (Anteriormente se les denominó virus pequeños de estructura redonda o virus de tipo Norwalk) ² .
Plan de muestreo	Registro oficial del muestreo que se pretende llevar a cabo en una zona de recolección, en lo que respecta a las especies, a la localización de los puntos de muestreo representativos y a la frecuencia del muestreo. Los componentes del plan de muestreo se establecen una vez efectuado el estudio sanitario ² .
Punto de muestreo representativo	Localización geográfica determinada de la que se extraen muestras que representan uno o varios bancos de moluscos bivalvos silvestres o sitios destinados a la acuicultura. El punto de muestreo representativo debe reflejar la situación de mayor riesgo de contaminación fecal dentro de la zona clasificada ² .
Sistema de información geográfica (SIG)	Sistema informático que integra las funciones de cartografía y almacenamiento de datos con el fin de almacenar, tratar, analizar, mostrar e interpretar datos a los que se asignan referencias espaciales ² .
Virus de la hepatitis A	Virus con un diámetro de 27 nm cuyo ácido nucleico está constituido por ARN. Se transmite por la vía fecal-oral y, aunque la mayor parte de las infecciones son asintomáticas o solo producen leves episodios febriles, puede causar inflamación del hígado e ictericia ² .
Virus entéricos	Grupo de virus sin relación entre sí, que tienen la característica común de ser transmitidos a través de la vía fecal-oral. Este grupo incluye el norovirus y el virus de la hepatitis A ² .

⁵ Los requisitos que establece la legislación relativa a los moluscos bivalvos, excepto la depuración, también se aplican a los equinodermos, tunicados y gasterópodos marinos. Los gasterópodos que no se alimentan por filtración quedan excluidos de las disposiciones sobre la clasificación de las zonas de producción.

Zona de producción	Zona marítima, de laguna o de estuarios donde se encuentren bancos naturales o zonas de cultivo de moluscos bivalvos y donde se recolecten moluscos bivalvos vivos ¹ .
Zona de recolección	En esta guía, este término se refiere tanto a las zonas de producción como a las de reinstalación ² .
Zona de reinstalación	Zona marítima, de laguna o de estuario claramente delimitada y señalizada por boyas, postes o cualquier otro material fijo, exclusivamente destinada a la depuración natural de moluscos bivalvos vivos ¹ .

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

En general, el pescado y el marisco se consideran alimentos seguros, saludables y nutritivos. Sin embargo, si los moluscos bivalvos que se alimentan por filtración se recolectan en aguas contaminadas con residuos fecales y se consumen crudos o insuficientemente cocinados, pueden originar enfermedades por la presencia de microorganismos. En el pasado, los moluscos bivalvos se asociaban con la fiebre tifoidea y paratifoidea, pero actualmente estas enfermedades son poco frecuentes en los países desarrollados. La gastroenteritis asociada a los moluscos bivalvos, causada por bacterias del género *Salmonella* que producen fiebre tifoidea y paratifoidea, se produce de vez en cuando, pero las enfermedades debidas a virus, como el norovirus (que origina gastroenteritis) o el virus de la hepatitis A (que causa hepatitis infecciosa) son hoy en día las infecciones más frecuentes asociadas a los moluscos bivalvos contaminados. Las heces de origen humano y animal pueden ser una fuente de patógenos transmisibles al hombre a través de moluscos bivalvos contaminados. Aunque las heces de origen humano pueden considerarse como de mayor riesgo, algunos de los patógenos que infectan al hombre pueden estar presentes en las heces animales, y actualmente no hay pruebas suficientes para estudiar ambas fuentes por separado.

La evaluación de las fuentes y tipos de contaminación fecal (de origen humano y animal) en la proximidad de las zonas de recolección, junto con un control microbiológico basado en el uso de organismos indicadores (en la UE, *Escherichia coli*), proporciona una estimación del riesgo de contaminación con patógenos bacterianos y virales y constituye la base de los controles de salud pública. En la UE, la responsabilidad de elaborar y aplicar programas oficiales de clasificación y control recae en la autoridad competente, y los requisitos a los que deben ceñirse se recogen en el anexo II del Reglamento (CE) nº 854/2004, por el que se establecen normas específicas para la organización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano. Los requisitos relacionados aplicables a la industria se recogen en el Reglamento (CE) nº 853/2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. A raíz de la evaluación en el marco del control oficial se realiza una clasificación de las zonas de recolección que determina si estas pueden utilizarse para la recolección y qué nivel de tratamiento es necesario aplicar posteriormente para reducir el riesgo a niveles considerados como aceptables. En la tabla 1 se indican los criterios para la clasificación que establece el Reglamento (CE) nº 854/2004 y, por referencia cruzada, el Reglamento del Consejo relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. El control continuo determina si cambia el nivel de riesgo y, por tanto, si es necesario aplicar controles a corto plazo o cambiar la clasificación. Esta guía se refiere a los controles oficiales que se llevan a cabo con este fin. Debe tenerse en cuenta que la tasa de absorción y eliminación de las bacterias indicadoras (como *E. coli*) por parte de los moluscos bivalvos es diferente de la de algunos otros patógenos (sobre todo los virales) y, por consiguiente, los resultados para *E. coli* pueden no ser indicativos del riesgo general de contaminación por patógenos. En consecuencia, al igual que sucede con otros productos alimenticios, los controles de la UE se basan en sistemas preventivos (análisis de peligros y puntos de control crítico), más que en la puesta en circulación segura de los lotes recolectados basada en pruebas microbiológicas. Los análisis de los lotes cuando se reciben en los centros de depuración o de expedición proporcionan una comprobación adicional de la calidad microbiológica, pero no sustituye al requisito de un programa de clasificación y control, aplicado correctamente, en el marco del control oficial.

La correcta aplicación de los programas de clasificación y control en virtud del Reglamento (CE) nº 854/2004 es responsabilidad de la autoridad competente y puede variar entre los distintos Estados miembros. La autoridad competente puede delegar algunas tareas concretas en un «organismo de control» autorizado, siempre que se cumplan ciertas garantías, tal como se especifica en el Reglamento (CE) nº 882/2004, y se notifique a la Comisión. En la figura 1 se ilustran los pasos básicos para que la autoridad competente establezca y ponga en práctica un programa de control oficial para la clasificación y el control microbiológicos de las zonas de

producción de moluscos bivalvos. Estos pasos se comentan con más detenimiento en los capítulos de esta guía, cuyo objetivo fundamental es ayudar a las autoridades competentes a aplicar programas basados en datos científicos para la protección de la salud pública y la promoción del comercio dentro de la UE.

Cuadro 1: Criterios para la clasificación de las zonas de recolección de moluscos bivalvos

Clase ¹	Norma microbiológica ²	Tratamiento posterior a la recolección necesario para reducir la contaminación microbiológica
A	Los moluscos bivalvos vivos procedentes de estas zonas no deben sobrepasar el límite de 230 NMP de <i>E. coli</i> por 100 g de carne y líquido intervalvar ³ .	Ninguno
B	Los moluscos bivalvos vivos procedentes de estas zonas no deben sobrepasar, en el 90 % de las muestras, el límite de 4 600 NMP de <i>E. coli</i> por 100 g de carne y líquido intervalvar. En el 10 % de las muestras restante, no deben sobrepasar el límite de 46 000 NMP de <i>E. coli</i> por 100 g de carne y líquido intervalvar ⁴ .	Depuración, reinstalación o cocinado mediante un método aprobado.
C	Los moluscos bivalvos vivos procedentes de estas zonas no deben sobrepasar, en un ensayo de «número más probable» con cinco tubos y tres diluciones, el límite de 46 000 <i>E. coli</i> por 100 g de carne y líquido intervalvar ⁵ .	Reinstalación o cocinado mediante un método aprobado.

¹ La autoridad competente puede prohibir la producción y recolección de moluscos bivalvos en las zonas que se consideren no aptas por motivos sanitarios.

² El método de referencia se establece como la norma ISO TS 16649-3.

³ Por referencia cruzada del Reglamento (CE) n° 854/2004, a través del Reglamento (CE) n° 853/2004, al Reglamento (CE) n° 2073/2005.

⁴ Reglamento (CE) n° 854/2004, modificado por el Reglamento (CE) n° 1021/2008.

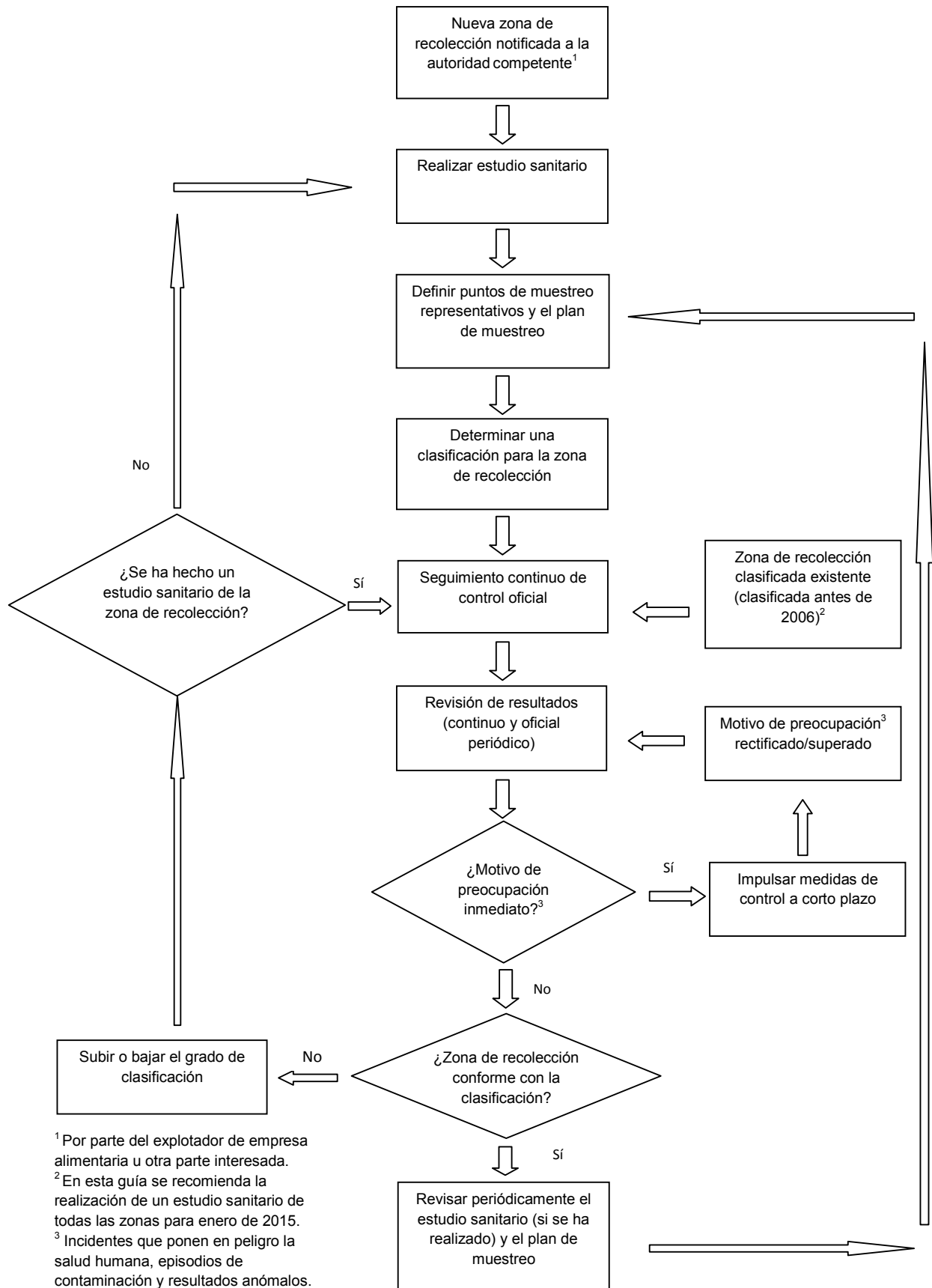
⁵ Reglamento (CE) n° 854/2004.

Esta guía se basa en los conocimientos científicos disponibles y en la experiencia adquirida mediante la aplicación de programas de control, de conformidad con el Reglamento (CE) n° 854/2004. Deberá revisarse periódicamente para aprovechar la experiencia adquirida en su aplicación e incorporar nuevos conocimientos científicos o los cambios legislativos que puedan producirse. Deben incorporarse a la revisión, sobre todo, los nuevos conocimientos sobre la

relación entre el indicador bacteriano (*E. coli*) y otros patógenos de importancia, como el norovirus, el virus de la hepatitis A y las distintas especies del género *Salmonella*, y los elementos fundamentales para el diseño del programa de control, como la predicción del riesgo, las prácticas de muestreo, la variabilidad espacial y temporal y la eficacia de los procesos de tratamiento.

El laboratorio europeo de referencia para el control de la contaminación bacteriológica y viral de los moluscos bivalvos ha publicado una guía técnica adicional (Anon 2013), que también puede servir de ayuda a las autoridades competentes y a otras partes interesadas.

Figura 1. Esquema general de los pasos básicos del programa de control oficial de los moluscos bivalvos



2. ESTUDIOS SANITARIOS

2.1 Introducción

Los estudios sanitarios conllevan la identificación de posibles fuentes de contaminación fecal en las zonas de recolección de moluscos bivalvos y la evaluación del impacto que esas fuentes pueden tener sobre la calidad microbiológica de los viveros. Constituyen el primer paso para la elaboración del programa de control microbiológico en las zonas de producción de moluscos bivalvos, ya que proporcionan una visión general de las fuentes de contaminación y, por tanto, la base científica necesaria para la identificación de puntos de muestreo representativos y la elaboración de un plan de muestreo. La contaminación fecal se puede originar a partir de diversas fuentes, entre otras, la descarga (continua o discontinua) de aguas residuales, los animales de granja, la fauna silvestre y el transporte marítimo. El impacto de esas fuentes de contaminación depende de su grado de dilución en el agua que las recibe y de si las corrientes transportan los contaminantes en dirección a las zonas de recolección o, por el contrario, los alejan de ellas.

Las heces de origen humano y animal pueden ser una fuente de patógenos transmisibles al hombre a través de los moluscos contaminados. Aunque las heces de origen humano pueden considerarse como de mayor riesgo, algunos de los patógenos que infectan al hombre pueden estar presentes en las heces animales, y actualmente no hay pruebas suficientes para estudiar ambas fuentes por separado.

Para reducir al mínimo los recursos necesarios debe obtenerse toda la información posible de las fuentes de datos disponibles y de los organismos públicos. Es preciso llevar a cabo estudios de la costa para comprobar si las fuentes de datos existentes han registrado todas las fuentes de contaminación de importancia y si siguen presentes las ya identificadas.

La profundidad del agua y las corrientes influyen en el grado de dilución de los contaminantes y en el impacto que estos tienen en los viveros de moluscos bivalvos que se encuentren a proximidad. Estos factores tienen una gran influencia sobre los niveles de contaminación microbiológica de los moluscos bivalvos; en lo que respecta a las corrientes, es importante también su variación en el tiempo, debido al efecto de las mareas, el viento, etc. Por tanto, los conocimientos relativos a estos efectos son importantes para interpretar la información acerca las fuentes de contaminación que se obtiene para el estudio sanitario.

Es complicado valorar cuantitativa y cualitativamente el impacto de las fuentes de contaminación, debido al gran número de factores que pueden influir en él. Incluso después de haber realizado un estudio sanitario puede no estar claro dónde situar los puntos de muestreo representativos. Un estudio bacteriológico limitado en el tiempo en distintos puntos potenciales puede ayudar a dilucidar esta cuestión. Las muestras deben tomarse en diferentes momentos para que reflejen las diferentes condiciones medioambientales que se dan a lo largo del tiempo (como los ciclos de mareas vivas y muertas o las variaciones en la humedad atmosférica).

Las fuentes de contaminación de una zona determinada pueden variar a lo largo del tiempo, debido, por ejemplo, a la aplicación de planes de mejora de los sistemas de aguas residuales o a los cambios en las prácticas de ganadería, y por tanto también deben revisarse periódicamente la información y las consiguientes recomendaciones, incluidos los planes de muestreo.

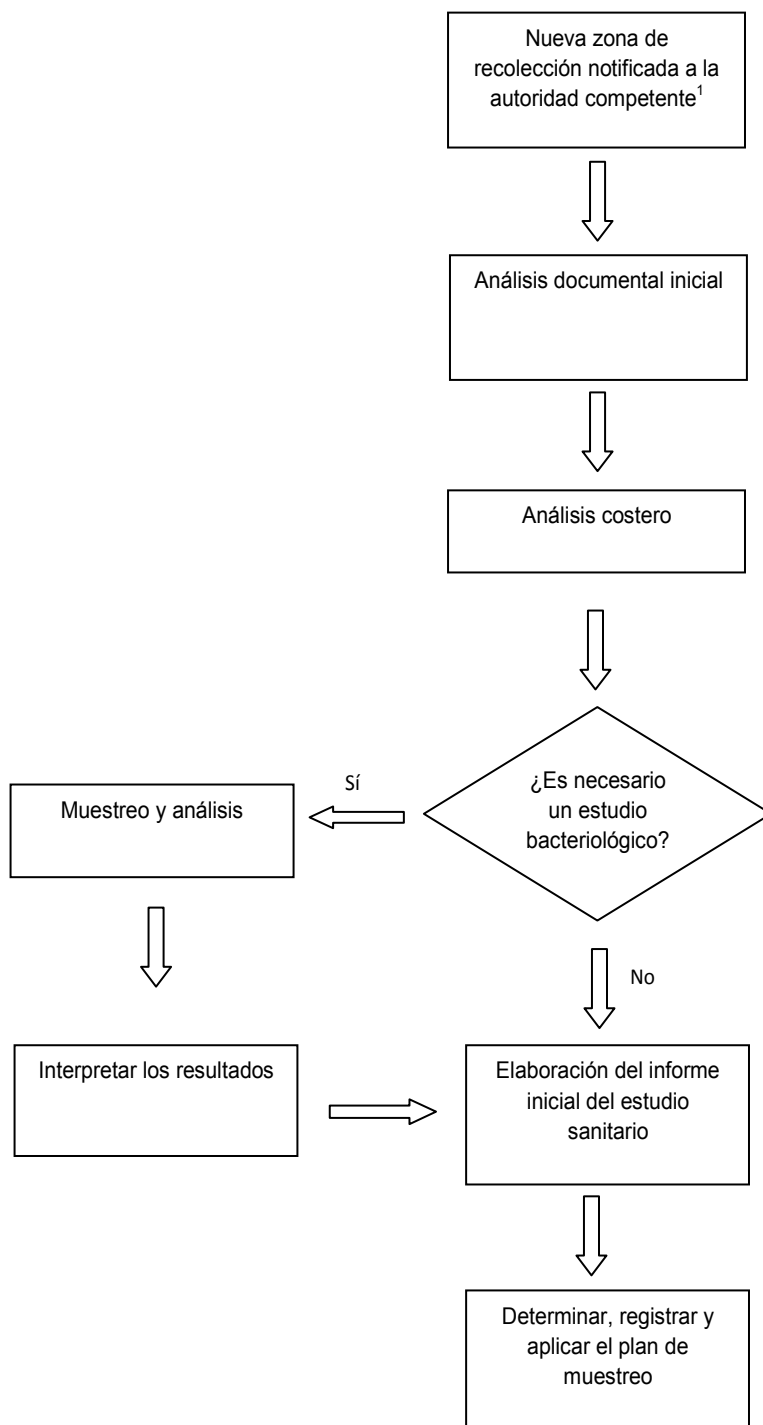
2.2 Requisitos

El punto 6 de la parte A del capítulo II del anexo II del Reglamento (CE) nº 854/2004 indica que si la autoridad competente decide, en principio, clasificar una zona de producción o de reinstalación, debe:

- a) hacer un inventario de las fuentes de contaminación de origen humano o animal que puedan afectar a la zona de producción;
- b) examinar las cantidades de contaminantes orgánicos que se liberen en cada época del año según las variaciones estacionales de las poblaciones humana y animal en la zona de captura, la pluviometría, el tratamiento de aguas residuales, etc.;
- c) determinar las pautas de circulación de los contaminantes atendiendo a las características de las corrientes, la batimetría y el ciclo de las mareas de la zona de producción.

Estos requisitos legales indicados en las letras a) a c) constituyen un estudio sanitario. En otras partes del texto del Reglamento se indica que el resultado del estudio sanitario debe reflejarse en el contenido del plan de muestreo (véase la sección 3). En la figura 1 se muestran las fases de elaboración del estudio sanitario inicial.

Figura 2. Estudio sanitario: estudio sanitario inicial y elaboración del plan de muestreo



¹ Por los operadores de las empresas alimentarias u otras partes interesadas

2.3 Recomendaciones

Aunque los requisitos que establece el Reglamento (CE) nº 854/2004 solo deben aplicarse oficialmente a las zonas clasificadas con posterioridad al 1 de enero de 2006, o a las clasificadas previamente que se someten a una reclasificación (con un grado superior o inferior al que tenían), la Comisión recomienda que las autoridades competentes pongan en práctica un programa para llevar a cabo estudios sanitarios en todas las zonas existentes, con el fin de que se elaboren y ejecuten programas de control sobre una base equivalente en todas las zonas de recolección clasificadas. Se recomienda que ese programa esté terminado en enero de 2015. Los productores y las asociaciones de productores pueden ayudar a las autoridades competentes a llevar a cabo los estudios sanitarios.

2.3.1 Contenido del estudio sanitario

Se recomienda que el estudio sanitario contenga los siguientes elementos:

- análisis documental
- estudio de la costa
- batimetría e hidrodinámica
- estudio bacteriológico

NOTA: Algunos de estos elementos pueden desarrollarse de forma simultánea, lo cual reduce el tiempo necesario para llevar a cabo el estudio sanitario.

2.3.2 Análisis documental

Debe abordar los siguientes aspectos:

- Caracterización de los viveros
- Información sobre las fuentes de contaminación potenciales
 - descargas continuas de aguas residuales (incluyendo las relacionadas con las actividades comerciales que transportan un contenido residual significativo)
 - descargas de aguas residuales dependientes de las lluvias (desbordamientos de los alcantarillados combinados o de los tanques de tormenta) y otras descargas dependientes de las lluvias (descargas de aguas pluviales)
 - descargas de emergencia (debidas, por ejemplo, a fallos de las bombas en las estaciones depuradoras)
 - ocupación del suelo
 - animales de granja
 - fauna silvestre
 - buques y barcos
 - cualquier variación estacional de estos factores (como la utilización de abonos, el turismo o los animales de granja)

2.3.3 Estudio de la costa

El objetivo del estudio de la costa debe ser:

- verificar la información obtenida sobre la localización y la extensión de los viveros;
- verificar la información obtenida sobre la localización y la naturaleza de las posibles fuentes de contaminación;
- identificar otras fuentes potenciales de contaminación;
 - si es posible, deben tomarse muestras para el análisis de la presencia de *E. coli* de:
 - cualquier descarga de aguas residuales o de aguas superficiales que no se hayan identificado previamente;
 - cualquier descarga procedente de cursos de agua próxima a las zonas de recolección;
 - moluscos bivalvos próximos a las fuentes potenciales de contaminación.

Nota: es posible que no se identifiquen todas las fuentes potenciales de contaminación durante un solo estudio debido a:

- los efectos estacionales;
- las descargas que dependen de las lluvias.

NOTA: la legislación alimentaria de la UE no cubre los métodos de análisis del agua dulce, del agua marina y de los sedimentos.

2.3.4 Batimetría e hidrodinámica

Este componente puede constar de uno o varios de los elementos que se exponen a continuación.

Su nivel de complejidad dependerá de las circunstancias locales, como la presencia de fuentes potencialmente importantes de contaminación fecal, la proximidad de estas a los viveros y las características hidrodinámicas de la zona.

- Referencia a mapas hidrográficos
- Referencia a tablas de mareas *software* especializado en corrientes de mareas
- Modelos hidrodinámicos sencillos
- Modelos hidrodinámicos complejos
- Enfoques alternativos o complementarios, como
 - las estimaciones sobre el grado de dilución (que pueden incluir los resultados de estudios con tientes trazadores o estudios de salinidad);
 - estudios con marcadores.

2.3.5 Estudio bacteriológico

El estudio bacteriológico debe efectuarse:

- si una vez finalizado el análisis documental y el estudio de la costa no está claro cuál es la mejor localización para uno o varios puntos de muestreo de vigilancia de una zona;
- a tal fin:
 - deben identificarse varios puntos potenciales, a partir de los resultados del análisis documental y del estudio de la costa;
 - deben tomarse al menos tres muestras en cada sitio y efectuarse pruebas de presencia de *E. coli*, dejando intervalos de al menos dos semanas entre los muestreos;
 - puede obtenerse más información si se toman muestras de agua marina, de los sedimentos superficiales, o de ambos, así como muestras de moluscos bivalvos;
 - el muestreo debe enfocarse de forma que puedan detectarse las condiciones que, en principio, pueden aumentar el riesgo de contaminación de los moluscos bivalvos en la zona en cuestión (como las lluvias o ciertas condiciones de las mareas);
 - deben calcularse la media geométrica y los intervalos de los resultados obtenidos y registrarlos junto con los datos sin procesar;
 - para el programa de control han de seleccionarse los puntos de muestreo que presenten los picos más altos de concentración de *E. coli*;
 - si los puntos de muestreo tienen picos similares, deben seleccionarse los sitios que muestran la mayor media geométrica de presencia de *E. coli*.

2.3.6 Análisis de la serie histórica de datos microbiológicos

Este análisis debe efectuarse:

- si existe una serie histórica de datos microbiológicos de las proximidades inmediatas de la zona en cuestión; este análisis puede contribuir a la evaluación general y las

recomendaciones del estudio sanitario, pero no puede invalidar otros elementos del mismo;

- a tal fin:
 - debe tenerse en cuenta la variabilidad geográfica y temporal (incluyendo la estacional);
 - si hay suficientes datos disponibles, puede hacerse un análisis estadístico para considerar el efecto de los factores medioambientales;
 - debe velarse por que los análisis se reflejen en los resultados del estudio sanitario.

2.3.7 Evaluación de los datos del estudio sanitario

Esta evaluación puede efectuarse a uno de los tres niveles indicados a continuación, dependiendo de los datos y de la situación local:

- *Evaluación cualitativa*
 - Debe hacerse una evaluación cualitativa respecto a cada una de las posibles fuentes de contaminación, para determinar si va a contribuir a la carga microbiana del vivero de moluscos bivalvos.
- *Evaluación semicuantitativa*
 - Debe hacerse una evaluación relativa de la contribución que cada una de las posibles fuentes de contaminación puede tener sobre la carga microbiana del vivero de moluscos bivalvos.
- *Evaluación cuantitativa*
 - Se efectúa cuando la evaluación cualitativa no descarta la contribución de una fuente de contaminación.
 - Normalmente, precisará la utilización de un modelo cuantitativo.

2.3.8 Contenido del informe del estudio sanitario

El informe debe contener, como mínimo, los siguientes elementos:

- Descripción general del vivero de moluscos bivalvos
- Vivero
 - Localización y extensión
 - Especies de moluscos bivalvos
 - Acuicultura o reserva silvestre
 - Zona de producción o zona de reinstalación
 - Estacionalidad de la recolección
 - Técnicas de recolección
 - Controles de conservación
- Localización, tamaño y nivel de tratamiento de fuentes de contaminación humanas
- Localización y estimación del volumen o la carga de la contaminación de las fuentes procedentes de la actividad agrícola
- Poblaciones significativas de fauna o aves silvestres
- Mapas y efectos estacionales de estos factores
- Registros de los estudios de la costa
- Hidrografía e hidrodinámica
- Registros de los resultados de los estudios bacteriológicos
- Valoración del efecto sobre la contaminación de los moluscos
- Plan de muestreo recomendado (véase la sección 3)
- Recomendaciones sobre la extensión de la zona de producción (delimitación geográfica)
- Otras consideraciones específicas sobre las fuentes de contaminación
- Clasificación recomendada (si hay suficientes datos disponibles, véase el punto 7.3.1)

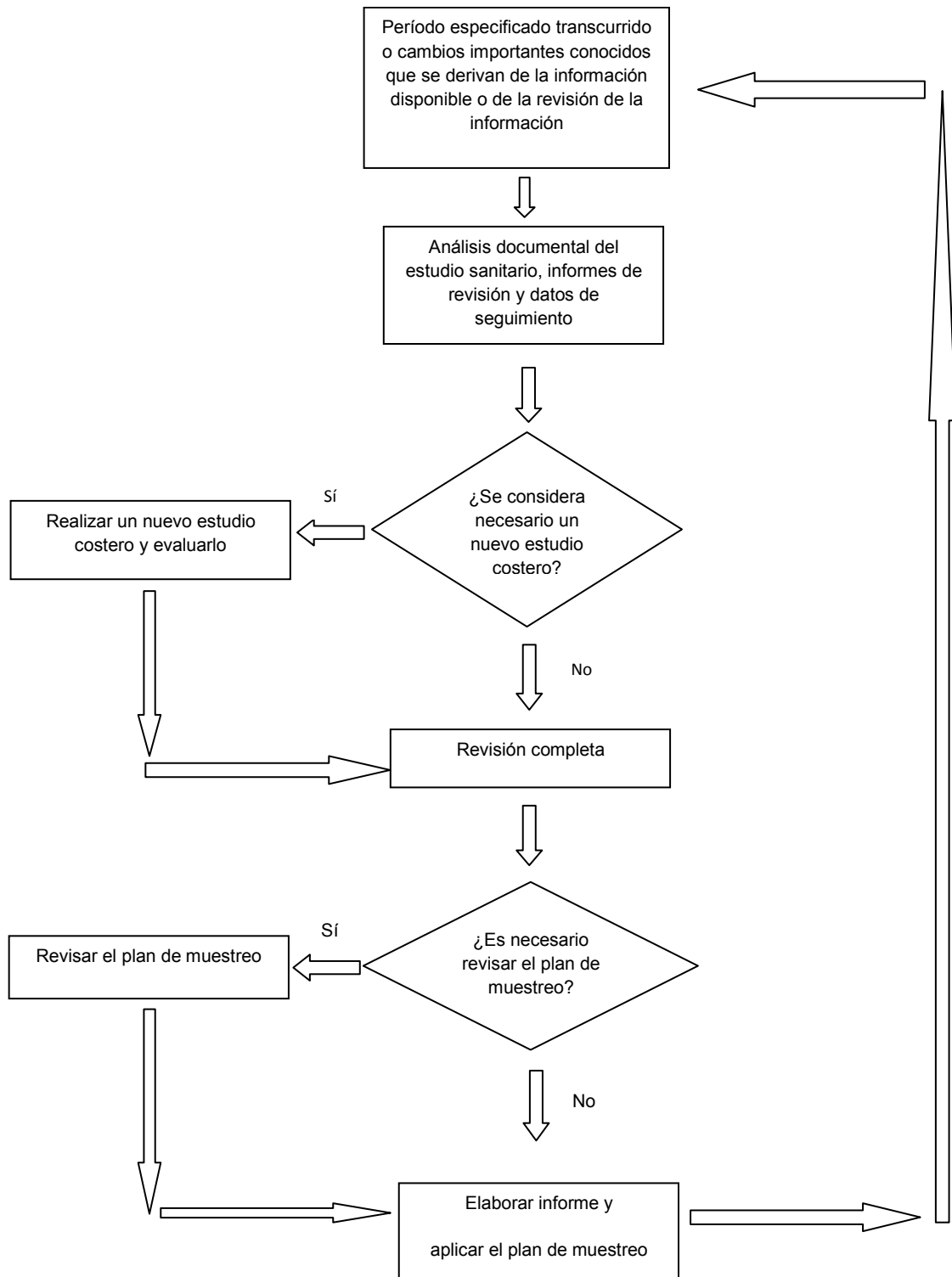
2.3.9 Revisión

Deben revisarse periódicamente el contenido y las conclusiones del estudio sanitario. En la figura 2 se muestran las fases de revisión de un estudio sanitario.

2.4 Resultado

Una vez finalizada esta fase, la autoridad competente debe tener un conocimiento global de la zona de recolección propuesta y de las fuentes de contaminación fecal que tienen un impacto sobre ella, y por tanto debe estar en situación de aprobar tanto los puntos de muestreo representativos como el plan de muestreo.

Figura 3. Revisión del estudio sanitario y del plan de muestreo



3. IMPLANTACIÓN Y REGISTRO DE PLANES DE MUESTREO

3.1 Introducción

La protección eficaz de la salud pública depende de la obtención de resultados representativos en los programas de control microbiológico. Los factores más importantes que hay que tener en cuenta en la elaboración y la ejecución de un programa eficaz son: las especies objeto del muestreo, la localización de los puntos de muestreo representativos (sobre todo en relación con las fuentes de contaminación), la frecuencia del muestreo, el momento en que se efectúa el muestreo (que depende en gran medida de las variables medioambientales) y la forma en que se evalúan los datos (períodos de tiempo y tolerancia permitida). Si estas variables no se tienen en cuenta correctamente se pueden obtener datos no representativos y, por tanto, adoptar decisiones sobre la clasificación poco acertadas.

El plan de muestreo constituye un registro formal del muestreo que se pretende realizar en una zona de recolección, con respecto a las especies, la localización de los puntos de muestreo representativos y la frecuencia del muestreo. Los componentes del plan de muestreo se identifican una vez realizado el estudio sanitario. También deben registrarse otros elementos de información, como la autoridad competente y el muestreador designado, con el fin de garantizar que se lleva a cabo el plan de muestreo.

En los planes de muestreo debe haber un equilibrio entre la evaluación científica de los requisitos necesarios para reflejar adecuadamente el grado de contaminación microbiológica en una zona de recolección (con el fin de proteger la salud pública) y los aspectos prácticos de la obtención, el transporte y el análisis de las muestras. Es necesario tener en cuenta este equilibrio al interpretar los datos resultantes del muestreo (véase la sección 7).

Para que el trabajo se desarrolle correctamente es preciso que todos aquellos involucrados en el programa de control microbiológico conozcan bien las partes de los planes de muestreo en los que participan. Esto solo puede conseguirse si los planes están registrados oficialmente y a disposición de todos los interesados, lo cual permite también contrastar el control realmente efectuado con el que se esperaba.

3.2 Requisitos:

Reglamento (CE) nº 854/2004, anexo II, capítulo II, parte A, punto 6:

Si la autoridad competente decide, en principio, clasificar una zona de producción o de reinstalación, deberá:

- d) establecer para la zona de producción un programa de muestreo de moluscos bivalvos basado en el examen de los datos obtenidos; el número de muestras, la distribución geográfica de los puntos representativos de toma de las mismas y su frecuencia deberán garantizar que los resultados de los análisis realizados sean lo más representativos posible de la zona en consideración.

Reglamento (CE) nº 854/2004, anexo II, capítulo II, parte B, punto 1:

Las zonas de reinstalación y de producción ya clasificadas deben someterse a controles periódicos, a fin de comprobar:

- b) la calidad microbiológica de los moluscos bivalvos vivos en relación con las zonas de producción y de reinstalación.

Reglamento (CE) nº 854/2004, anexo II, capítulo II, parte B, punto 2:

A los efectos de lo previsto en la letra b) del punto 1:

deberán elaborarse planes de muestreo que prevean la realización de esas comprobaciones a intervalos regulares, o bien caso por caso cuando los períodos de recolección sean irregulares. La distribución geográfica de los puntos de muestreo representativos y la frecuencia del muestreo deberán garantizar que los resultados del análisis sean lo más representativos posible para la zona en cuestión.

Reglamento (CE) nº 854/2004, anexo II, capítulo II, parte B, punto 3:

Los planes de muestreo para comprobar la calidad microbiológica de los moluscos bivalvos vivos deben tener en cuenta, en particular:

- a) las posibles variaciones de la contaminación fecal,
- y
- b) los parámetros contemplados en el punto 6 de la parte A.

3.3 Recomendaciones

La legislación pretende garantizar que los planes de muestreo y, en consecuencia, los datos microbiológicos resultantes sean lo más representativos posible de la zona objeto del control. Las recomendaciones que se indican a continuación servirán de ayuda a las autoridades competentes para cumplir estos requisitos mediante un enfoque científico y sistemático.

El plan de muestreo debe constar de los siguientes elementos:

3.3.1 Consideraciones sobre el plan de muestreo

El plan de muestreo debe abordar los siguientes aspectos:

- Las especies de moluscos bivalvos que deben muestrearse
- La selección de la localización y el número de puntos de muestreo representativos
 - Esta selección debe basarse en el resultado del estudio sanitario.
 - En las zonas situadas mar adentro (a más de 5 km de la costa) que no sufren el impacto de los puntos de descarga (según el estudio sanitario) pueden utilizarse puntos de muestreo aleatorios dentro de la zona clasificada.
- La localización geográfica de los puntos de muestreo representativos
 - Debe indicarse con suficiente precisión.
- La profundidad del muestreo
 - Si procede (por ejemplo, en el caso de los moluscos bivalvos que crecen sobre cuerdas o sobre postes de madera o «bouchots»).
 - El muestreo debe realizarse a la profundidad de mayor concentración de *E. coli*.
- La frecuencia del muestreo
 - Clasificación (inicial)
 - Las zonas de recolección deben someterse a un control muy frecuente^a que permita una evaluación relativamente rápida de la clasificación.
 - Las muestras no deben tomarse en lugares tan próximos entre sí que se produzca una correlación entre los resultados.
 - El muestreo debe realizarse de forma que quede cubierta una parte suficiente del año, con el fin de reflejar la variabilidad asociada a los efectos a corto plazo y estacionales.
 - Clasificación (establecida)
 - El control debe continuar con una frecuencia^b elevada hasta obtener suficientes datos sobre los efectos de la variación estacional.
 - El control continuo debe ser suficiente^c para detectar las fluctuaciones en los niveles de *E. coli*.
 - Zonas estables

- Las zonas que se definan como estables^d con respecto a los resultados de *E. coli* pueden someterse a un control de frecuencia reducida.
- Estacionalidad del muestreo (cuando existen patrones estacionales claros para la actividad comercial)
 - El control puede realizarse durante un período del año más corto.
 - El control debe comenzar antes de la época de recolección, para evaluar el estado microbiológico de la zona en ese momento.
- Tiempo de muestreo:
 - En función de los factores que pueden afectar a la calidad microbiológica de la muestra.

3.3.2 Momento del muestreo en las zonas de reinstalación

- Debe transcurrir un período de tiempo suficiente^e entre el asentamiento de los moluscos bivalvos en la zona de reinstalación y cualquier muestreo, de forma que los animales puedan adaptarse a la calidad microbiológica de la zona.

3.3.3 Registro de los planes de muestreo

Los planes de muestreo deben registrarse expresamente e incluir los siguientes elementos:

- Zona de producción
- Denominación del sitio
- Identificador del sitio
- Especies de moluscos bivalvos
- Localización geográfica (coordenadas o longitud/latitud)
- Máxima distancia permitida desde el punto de muestreo identificado
- Profundidad del muestreo (si procede)
- Frecuencia de muestreo
- Autoridad responsable
- Muestreador(es): nombre(s) y número(s) de referencia
- Otra información pertinente

3.4 Resultado

Al final de esta fase, la autoridad competente debe haber analizado los diferentes factores prácticos que influyen en la elaboración de un plan de muestreo con base científica y haberlos consolidado en un registro del plan de muestreo oficial.

4. MUESTREO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

4.1 Introducción

Con el fin de garantizar la obtención de unos datos representativos, los moluscos bivalvos que se utilicen en el control microbiológico en el marco del control oficial de las zonas de recolección deben extraerse en los puntos de muestreo representativos que se hayan designado (según el plan de muestreo), en condiciones convenientemente controladas. En función del tipo de vivero, el muestreo puede exigir el uso de una embarcación. Otros factores importantes son: el envasado, el control de la temperatura durante su transporte y el tiempo que transcurre entre la toma de las muestras y el análisis. Tanto la toma de muestras como su transporte deben estar bien planificados y debe disponerse de suficientes recursos para garantizar que los datos que se obtienen con el programa de muestreo se corresponden con los que indica el plan de muestreo.

Las recomendaciones que se incluyen en esta sección pretenden servir para garantizar que los resultados que se obtengan de las muestras que se tomen sean lo más representativos posible. Los protocolos para la toma y el transporte de las muestras constituyen la base fundamental para garantizar la normalización de los procedimientos y, por tanto, que los resultados obtenidos sean representativos de los moluscos bivalvos de la zona de recolección. Para garantizar la aplicación de tales protocolos, estos deben estar a disposición de toda persona encargada de la gestión del programa de clasificación y control y de la toma y el transporte de las muestras.

4.2 Requisitos

El Reglamento (CE) nº 882/2004 establece lo siguiente:

(11) Las autoridades competentes para efectuar los controles oficiales deben cumplir una serie de criterios operativos que garanticen su imparcialidad y eficacia. Deben contar con personal suficiente que tenga la cualificación y experiencia adecuadas, y poseer instalaciones y equipos apropiados para desempeñar correctamente sus funciones.

(12) Los controles oficiales deben llevarse a cabo por medio de técnicas apropiadas desarrolladas al efecto, entre las que se incluyen las actividades de vigilancia regulares y controles más intensivos, como inspecciones, verificaciones, auditorías, tomas de muestras y análisis de las mismas. La correcta aplicación de esas técnicas requiere que el personal que lleve a cabo los controles oficiales reciba la formación adecuada. La formación es necesaria también para que las autoridades de control tomen decisiones de manera uniforme, en particular con respecto a la aplicación de los principios del análisis de peligros y puntos de control crítico (HACCP en sus siglas inglesas).

Y (título II, capítulo III):

1. Los métodos de muestreo y análisis utilizados en los controles oficiales serán conformes con la normativa europea en vigor o:

a) a falta de esta normativa, con las normas o protocolos internacionalmente reconocidos, por ejemplo, los aceptados por el Comité Europeo de Normalización (CEN), o los aceptados en la legislación nacional, o

b) a falta de las anteriores, con otros métodos adecuados al objetivo perseguido o desarrollados de acuerdo con protocolos científicos.

El capítulo II, letra F, del anexo II del Reglamento (CE) nº 854/2004 establece lo siguiente:

Para decidir la clasificación, la apertura o el cierre de zonas de producción, la autoridad competente podrá tener en cuenta los resultados de los controles llevados a cabo por los operadores de empresa alimentaria o por organizaciones que los representen. En ese

caso, la autoridad competente deberá haber designado el laboratorio que efectuará los análisis y, si procede, los muestreos y análisis deberán haberse efectuado siguiendo un protocolo que haya sido acordado entre la autoridad competente y los operadores de empresa alimentaria u organizaciones afectados.

4.3 Recomendaciones

4.3.1 Muestreo y transporte de las muestras

Los funcionarios muestreadores deben recibir instrucciones que contengan la información siguiente:

- El lugar en el que debe efectuarse el muestreo
- Las especies que deben someterse al muestreo
- El método de muestreo
 - implica evitar una contaminación adicional a la que podrían generar actividades comerciales normales.
- El número de animales (de cada especie) que deben constituir la muestra y el peso mínimo de cada animal
- La limpieza de la parte externa de las conchas de las muestras
- El registro del muestreo
 - incluye la utilización de un formulario de muestreo.
- Los recipientes de muestreo y el envase exterior que deben utilizarse
- El método estipulado para el uso de bolsas refrigerantes o de otros medios de control de la temperatura
 - Para que la temperatura se mantenga en el intervalo especificado por la autoridad competente, con el fin de garantizar la estabilidad de *E. coli* durante el transporte de las muestras.
 - El tiempo máximo que debe transcurrir entre la toma de muestras y el comienzo del análisis en el laboratorio, según especifique la autoridad competente, para garantizar la estabilidad de *E. coli*.

4.3.2 Formulario de muestreo

Es importante utilizar formularios de muestreo adecuados, para evitar la pérdida de datos y garantizar la trazabilidad.

En el formulario de muestreo deben registrarse los elementos siguientes:

- Identificación del punto de muestreo
- Referencia cartográfica (coordenadas o longitud/latitud) del lugar real del muestreo
- Fecha y hora de la recogida
- Especies muestreadas
- Método de recogida (a mano, dragado, etc.)
- Temperatura del agua (o del aire, en el caso de las especies de la zona intermareal que se hallen expuestas en el momento del muestreo)
- Cualquier otra información considerada pertinente (como sucesos inhabituales, condiciones meteorológicas adversas, etc.)
- Dirección y velocidad del viento, mareas, dirección de la corriente (si procede)

El cuadro 2 contiene un ejemplo de formulario

Cuadro 2. Ejemplo de formulario de muestreo

Código o descripción del programa	
Número de referencia del muestreador	
Nombre del muestreador	
Número de referencia de la muestra	
Fecha	
Hora	
Número de referencia del punto de muestreo real	
Nombre del punto de muestreo real	
Localización del punto de muestreo representativo (coordenadas o longitud/latitud)	
Especies de moluscos bivalvos	
Método de recogida (señalar con un círculo)	Dragado Recogida manual Rastrillado manual Buceo Otros (especificar)
Fase de la marea (señalar con un círculo)	Vivas Muertas
	Pleamar Reflujo Bajamar Flujo
Temperatura del agua (si el marisco está cubierto)	
Temperatura del aire (si el marisco está expuesto)	
Viento (dirección y velocidad)	
Lluvia en las últimas 48 horas	Sí / No
Observaciones ¹	
Fecha de llegada al laboratorio	
Hora de llegada al laboratorio	
Aceptado por el laboratorio (si la respuesta es negativa, indique los motivos)	Sí / No

¹ Por ejemplo, presencia de aves u otros animales, desbordamientos, embarcaciones trabajando en la zona, turistas, etc.

4.3.3 Control del programa de muestreo

- Todos los muestreadores deben recibir formación oficial
- Los muestreadores deben contar con equipamiento de seguridad y de muestreo adecuado
- El muestreo debe ser auditado:
 - mediante la revisión continua de los registros de muestreo;

- mediante una auditoría presencial periódica de los procedimientos de toma y transporte de las muestras;
- con una frecuencia establecida sobre la base de una evaluación de riesgos.
- Deben corregirse las desviaciones de los procedimientos de muestreo detectadas
 - Si es necesario, debe volver a formarse a los muestreadores.

4.3.4 Suministro de muestras o de resultados de muestras por parte de la industria del sector si la autoridad competente lo autoriza

- Si los responsables de la autoridad competente, u otros organismos oficiales autorizados, no pueden obtener muestras:
 - puede facilitarlas la industria del sector:
 - si se cumplen todos los requisitos de presentación por muestreadores oficiales;
 - siempre que sea posible, el muestreo debe ser supervisado por un funcionario autorizado;
 - en caso contrario, un funcionario autorizado debe tomar muestras, o supervisar el procedimiento, de forma ocasional;
 - si el muestreo se realiza siguiendo un protocolo que haya sido establecido de común acuerdo entre la autoridad competente y la industria del sector;
 - deben implantarse procedimientos que garanticen la detección de cualquier desviación del protocolo en el momento de la presentación de las muestras y no una vez conocidos los resultados del análisis del laboratorio.
- Suministro de resultados de muestreos por parte de la industria del sector
 - El lugar y el momento de los muestreos deben decidirse de manera que representen realmente el nivel de contaminación de la zona en cuestión
 - evaluado con respecto al resultado del estudio sanitario.
 - Los procedimientos de toma y transporte de las muestras deben ajustarse a los protocolos emitidos por la autoridad competente o por el organismo de control que gestione el programa de control.
 - Estos procedimientos deben ajustarse también a las indicaciones mencionadas en las secciones 4.3.1 a 4.3.3.
 - Los laboratorios debe ser designados por la autoridad competente.
 - Los análisis de laboratorio deben realizarse siguiendo las recomendaciones de la sección 5 de esta guía.
 - Debe establecerse un procedimiento oficial que garantice que la autoridad competente tendrá acceso a todos los resultados de las muestras que se tomen con este fin.

4.3.5 Recepción en el laboratorio:

Las muestras deben analizarse únicamente si se cumplen las condiciones siguientes:

- Se han transportado siguiendo las indicaciones de la sección 4.3.1.
- La cantidad y el peso mínimos de carne de los animales vivos cumplen los requisitos establecidos por la autoridad competente
 - y el mínimo absoluto de diez animales que dispone el Reglamento (CE) nº 2073/2005.
- Las muestras han llegado en los recipientes y las bolsas que se han especificado.
- Los recipientes, o las bolsas, de las muestras están correctamente etiquetados.
- Las muestras han llegado en condiciones adecuadas.
- Las muestras van acompañadas de un formulario de muestreo cumplimentado (véase la sección 4.3.2).
- La temperatura y el tiempo transcurrido están dentro de los límites especificados por la autoridad competente.

4.4 Resultado

Al concluir esta fase, la autoridad competente deberá haber adoptado disposiciones solventes, registradas oficialmente, sobre la toma de muestras para el control oficial y su transporte hasta el laboratorio que las analizará.

5. PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS

5.1 Introducción

La calidad de los resultados de los análisis es un factor de enorme importancia para los programas de control en el marco del control oficial, y es preciso tenerlo muy en cuenta para no introducir errores en las pruebas. Los reglamentos de la UE contienen disposiciones importantes sobre el marco de calidad de las pruebas de control oficial, como los requisitos sobre los métodos utilizados, la acreditación de los laboratorios, las pruebas de aptitud y la supervisión por parte de laboratorios de referencia. Se ha comprobado que algunos de los métodos existentes para el recuento de *E. coli* en los productos alimenticios dan resultados sensiblemente diferentes cuando se aplican a moluscos bivalvos. Es necesario emplear un método que permita una recuperación adecuada de las bacterias sometidas al estrés marino. Si se utiliza un método inadecuado pueden obtenerse resultados erróneamente bajos, que darían lugar a una clasificación que no protege suficientemente la salud pública. El método de referencia establecido en la legislación de la UE para la enumeración de *E. coli* en moluscos bivalvos es la norma ISO TS 16649-3 (véase más adelante). Es un ensayo de «número más probable» en dos fases, de cinco tubos y tres diluciones. La primera fase es de reanimación, para lo cual se requiere la inoculación de caldo de glutamato mineral modificado (MMGB) en una serie de homogeneizados de moluscos bivalvos diluidos y su incubación a 37 ± 1 °C durante 24 ± 2 horas. Posteriormente, se confirma la presencia de *E. coli* mediante tubos de subcultivo que revelan la producción de ácido sobre agar triptona bilis glucurónido (TBGA) y detectan la actividad β -glucuronidasa por la presencia de colonias azules o verdeazuladas. El método ISO TS 16649-3 se combina con la norma ISO 7218 para determinar el número más probable, a partir de la combinación de tubos positivos y negativos (según la norma ISO 2007).

La norma ISO TS 16649-3 ofrece detalles del método de laboratorio, y la norma EN ISO 6887-3 ofrece métodos de preparación de las muestras.

El Reglamento (CE) n° 882/2004 dispone que «la designación de laboratorios comunitarios y nacionales de referencia ha de contribuir a que los resultados de los análisis sean de elevada calidad y muy uniformes. Este objetivo puede alcanzarse, entre otras cosas, aplicando métodos de análisis validados, garantizando la disponibilidad de materiales de referencia, organizando ensayos comparativos y formando adecuadamente al personal de los laboratorios».

5.2 Requisitos

5.2.1 Método especificado para *E. coli*

El Reglamento (CE) n° 854/2004 menciona el uso de un ensayo de «número más probable» con cinco tubos y tres diluciones para la clasificación de las zonas de clase B y C. Este punto se modifica en el Reglamento (CE) n° 1021/2008, que dispone que el método de referencia para este análisis es el ensayo de “número más probable” (NMP) con cinco tubos y tres diluciones, especificado en ISO 16649-3. En la referencia cruzada del Reglamento (CE) n° 854/2004 al Reglamento (CE) n° 2073/2005 de la Comisión, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, se especifica que la norma ISO 16649-3 es el método de referencia para los productos acabados y las zonas de clase A. Pueden emplearse métodos alternativos si están validados con respecto a dicho método de referencia, de acuerdo con los criterios de la norma EN/ISO 16140 [Reglamento (CE) n° 1021/2008], o con el método de referencia según el protocolo de la norma ISO 16140 u otros protocolos de validación aceptados a escala internacional [Reglamento (CE) n° 2073/2005]. Los métodos alternativos de recuento de *E. coli*, cuya validación ha sido considerada satisfactoria por el laboratorio europeo de referencia, se presentan^{k,l} en el anexo 1 de esta guía.

5.2.2 Designación y acreditación de los laboratorios

El Reglamento (CE) nº 854/2004 establece lo siguiente:

- «1. La autoridad competente designará los laboratorios que pueden realizar el análisis de las muestras tomadas en los controles oficiales.
2. Sin embargo, las autoridades competentes podrán designar únicamente laboratorios que funcionen y estén evaluados y acreditados conforme a las siguientes normas europeas:
- a) EN ISO/IEC 17025, "Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración";
 - b) EN 45002 "Criterios generales para la evaluación de los laboratorios de ensayo";
 - c) EN 45003 "Sistemas de acreditación de laboratorios de ensayo y calibración. Requisitos generales relativos a su funcionamiento y reconocimiento", teniendo en cuenta los criterios establecidos en la legislación comunitaria sobre piensos y alimentos aplicables a los diferentes métodos de ensayo».

La autoridad competente puede delegar algunas tareas concretas en un «organismo de control» designado particular, siempre que se cumplan ciertas garantías, tal como se especifica en el Reglamento (CE) nº 882/2004, y se notifique a la Comisión.

5.2.3 Ensayos comparativos y supervisión por parte de los laboratorios nacionales de referencia

El Reglamento (CE) nº 882/2004 dispone que dos de las responsabilidades que deben asumir los laboratorios nacionales de referencia son:

- «b) coordinar, para su área de competencia, las actividades de los laboratorios oficiales encargados del análisis de muestras conforme al artículo 11;
- c) cuando proceda, organizar ensayos comparativos entre los laboratorios oficiales nacionales y velar por que dichos ensayos comparativos reciban un seguimiento adecuado».

5.3 Recomendaciones

Al establecer y poner en práctica los programas de control de *E. coli* en las zonas de producción de moluscos bivalvos, las autoridades competentes deben asegurarse de que se cumplen los requisitos legislativos sobre los laboratorios expuestos anteriormente.

Para resumir, los laboratorios deben:

- estar designados por la autoridad competente;
- utilizar el método correcto para el análisis de *E. coli*;
- estar acreditados para el empleo de dicho método;
- participar en las pruebas de aptitud para el análisis de *E. coli* en moluscos bivalvos;
- estar supervisados por los laboratorios nacionales de referencia.

Otros aspectos particulares que también deben abordarse son:

- los intervalos de dilución que deben utilizarse en los ensayos de número más probable
 - para obtener un valor en lugar de un resultado «superior a (>)»;
- la validación de métodos alternativos a la norma ISO 16140
 - si no se emplea el método de referencia, ISO TS 16649-3;
- la inspección continua de la acreditación de los laboratorios;
- los procedimientos internos de control de la calidad;
- los métodos de ensayo comparativo

- participación en planes de evaluación externa de la calidad y ensayos interlaboratorios con laboratorios nacionales de referencia;
- medidas correctivas en caso de obtener resultados fuera de los valores objetivo;
- el mecanismo de supervisión de los laboratorios por parte de los laboratorios nacionales de referencia.

5.4 Resultado

Si se siguen estas indicaciones, la autoridad competente puede tener la seguridad de que las muestras del control oficial se someten a ensayo de acuerdo con los requisitos legislativos y, por tanto, que se obtienen datos válidos desde el punto de vista científico que servirán de base para las decisiones relativas a la gestión del riesgo.

6. TRATAMIENTO Y ALMACENAMIENTO DE LOS DATOS

6.1 Introducción

Para llevar a cabo una correcta gestión del programa de control microbiológico, y el posterior análisis de los datos, es necesario almacenar la información pertinente y los resultados de forma segura, organizada y fácilmente accesible. Normalmente, el uso de una base de datos es la forma más eficaz y versátil. Teniendo en cuenta que gran parte de la información del programa va a constar de elementos geográficos, la gestión del programa puede facilitarse con la utilización de un sistema de información geográfica (SIG), preferiblemente vinculado a una base de datos.

Los programas de control microbiológico de los Estados miembros o de las regiones con un número apreciable de viveros acumulan rápidamente grandes volúmenes de datos. Es importante que estos datos se validen convenientemente y sean directamente accesibles y analizables. El uso de una base de datos específica, preferentemente vinculada a un sistema de información geográfica que permita presentar adecuadamente los datos geográficos, facilita el cumplimiento de los requisitos establecidos.

6.2 Requisitos

El almacenamiento de los datos del laboratorio puede realizarlo el organismo acreditado. No obstante, en la UE no existen requisitos legales con respecto al almacenamiento de los datos del propio programa de control.

6.3 Recomendaciones

- Los datos del programa de control deben almacenarse en una base de datos segura; provista de tablas que contengan los elementos siguientes:
 - Información sobre los planes de muestreo (véase la sección 3.3.1)
 - Información sobre las muestras
 - Resultados del análisis de las muestras
- Asimismo, puede considerarse la inclusión en la base de datos de los elementos siguientes:
 - Los resultados del estudio sanitario
 - Información sobre episodios de contaminación
 - Los resultados de las investigaciones sobre los episodios de contaminación y los resultados anómalos de *E. coli*
- El acceso a la base de datos debe estar protegido por contraseñas y los usuarios deben recibir permisos individuales de solo lectura o de escritura en función de las necesidades organizativas.
- Los datos deben someterse a procedimientos de verificación adecuados.
- Extracción de datos
 - Los planes de muestreo deben estar disponibles tanto por zona de recolección como por punto de muestreo. Los resultados de *E. coli* deben poder extraerse, al menos, por punto de muestreo y por intervalos de fechas.
- Auditoría de los datos

- Conviene introducir un sistema de trazabilidad, de forma que todo cambio en los datos quede registrado junto con la identificación de la persona que lo ha realizado y el motivo del cambio.
- Integración con la función cartográfica
 - Cuando se utiliza un sistema de información geográfica en lugar de mapas impresos, el contenido general de los planes de muestreo debe estar disponible a través de la función cartográfica del sistema.
- Publicación de los datos en internet
 - La autoridad competente puede considerar esta posibilidad, como medio eficaz de difusión de información pertinente.
- Los sistemas electrónicos (bases de datos) deben incorporar procedimientos habituales de aseguramiento de la calidad que garanticen la verificación de los datos.

6.4 Resultado

Esta sección tiene como finalidad ayudar a la autoridad competente a garantizar que los datos relacionados con el programa de control oficial se conserven de forma segura, organizada y fácilmente accesible. Es una importante contribución a las actividades de gestión continua del riesgo y los procesos de auditoría y revisión.

7. INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS DEL PROGRAMA DE CONTROL

La interpretación tiene como finalidad establecer o mantener la clasificación de las zonas de producción o de reinstalación.

7.1 Introducción

Los datos de control microbiológico generados por el programa (tal como se ha descrito en las secciones anteriores) se utilizan para establecer la clasificación de las zonas de producción. Esta clasificación permite una evaluación del riesgo de contaminación basada en la presencia de bacterias fecales indicadoras y determina el tratamiento posterior al que deben someterse los moluscos bivalvos recolectados antes de su comercialización. La evaluación de la clasificación se basa en datos de series temporales históricas y permite una predicción del riesgo de contaminación durante un período futuro. En este sentido, no tiene especial interés la conformidad histórica en sí, sino la utilización de los datos para predecir el posible riesgo en el futuro. En la práctica, es probable que el grado de contaminación fecal varíe considerablemente en el medio ambiente, y por tanto en los distintos momentos en que se lleva a cabo el muestreo. Esta variación puede darse en cuestión de horas en zonas con concentraciones fluctuantes de *E. coli* en las fuentes de contaminación, o en zonas sometidas a la influencia de fuertes corrientes o intensas lluvias. La aparición de patógenos varía también en función de otros factores, como la persistencia medioambiental relativa o la aparición en la comunidad. En algunos estudios se ha observado una falta de correlación entre los resultados de las distintas muestras de *E. coli* y la aparición de patógenos. En consecuencia, la clasificación debe basarse en un número suficiente de resultados obtenidos en el transcurso del tiempo y en distintas condiciones ambientales para ser representativa y poder predecir con un grado razonable de fiabilidad el estado de contaminación de los productos que se recolecten en el futuro y, por tanto, del riesgo que representan. Por este motivo, no es adecuado clasificar las zonas sobre la base de una muestra, porque no puede darse por supuesto que las muestras con bajos contenidos de *E. coli* provenientes de zonas que han estado más contaminadas previamente indiquen un riesgo comparativamente bajo de aparición de patógenos. A la inversa, resultados inesperadamente altos pueden indicar un episodio específico de contaminación fecal, y por tanto, un riesgo elevado, y deben someterse a una investigación proactiva y, en caso necesario, adoptarse medidas de control.

La interpretación de los datos debe tener en cuenta las características específicas de la zona en cuestión (como las que revela el estudio sanitario) y la influencia de las condiciones medioambientales, como las estaciones y las lluvias. Los factores medioambientales tienden a

aumentar la variabilidad de los datos del control. Esta variabilidad en la clasificación debida a los factores externos puede reducirse mediante el empleo de series de datos que contengan un gran número de resultados obtenidos en períodos de tiempo más largos. A la inversa, el uso de series de datos cortas, o períodos de control breves, tiende a aumentar la variabilidad de las clasificaciones.

En la figura 3 se muestra un esquema del proceso de interpretación de los datos

7.2 Requisitos

El Reglamento (CE) nº 854/2004 (modificado por el Reglamento (CE) nº 1021/2008) establece lo siguiente:

«1. La autoridad competente debe determinar la ubicación y los límites de las zonas de producción y de reinstalación que clasifique. Podrá hacerlo, si procede, en cooperación con el operador de empresa alimentaria.

2. La autoridad competente deberá clasificar en tres categorías las zonas de producción en las que autorice la recolección de moluscos bivalvos vivos, de acuerdo con el grado de contaminación fecal. Podrá hacerlo, si procede, en cooperación con el operador de empresa alimentaria.

3. La autoridad competente podrá clasificar como zonas de clase A aquellas en las que pueden recolectarse moluscos bivalvos vivos para el consumo humano directo. Los moluscos bivalvos vivos recogidos en estas zonas deben cumplir las correspondientes normas sanitarias contempladas en el capítulo V de la sección VII del anexo III del Reglamento (CE) nº 853/2004.

4. La autoridad competente podrá clasificar como zonas de clase B aquellas en las que puedan recolectarse moluscos bivalvos vivos que únicamente puedan comercializarse para el consumo humano tras su tratamiento en un centro de depuración o su reinstalación de modo que cumplan las normas sanitarias mencionadas en el punto 3. Los moluscos bivalvos vivos procedentes de dichas zonas no deben sobrepasar, en el 90 % de las muestras, el límite de 4 600 *E. coli* por 100 g de carne y líquido intravalvar. En el 10 % de las muestras restante, los moluscos bivalvos vivos no deben sobrepasar el límite de 46 000 *E. coli* por 100 g de carne y líquido intravalvar.

5. La autoridad competente podrá clasificar como zonas de clase C aquellas en las que pueden recolectarse moluscos bivalvos vivos que únicamente pueden comercializarse tras su reinstalación durante un período prolongado, de modo que cumplan las normas sanitarias mencionadas en el punto 3. Los moluscos bivalvos vivos procedentes de dichas zonas no deben sobrepasar, en un ensayo de «número más probable» con cinco tubos y tres diluciones, los 46 000 *E. coli* por 100 g de carne y líquido intravalvar».

Y:

«C. DECISIONES A RAÍZ DE LOS CONTROLES

1. Si los resultados del muestreo indican que no se cumplen las normas sanitarias establecidas para los moluscos, o que puede haber cualquier otro tipo de riesgo para la salud humana, la autoridad competente deberá cerrar la zona de producción afectada a la recolección de moluscos bivalvos vivos. No obstante, la autoridad competente podrá reclasificar una zona de producción en la categoría B o C si cumple los requisitos correspondientes establecidos en la parte A y no presenta otros riesgos para la salud humana.

2. La autoridad competente únicamente podrá reabrir una zona de producción cerrada si se vuelven a cumplir las normas sanitarias establecidas para los moluscos por la legislación comunitaria. [...]».

D. REQUISITOS DE CONTROL ADICIONALES

1. La autoridad competente controlará las zonas de producción clasificadas donde haya prohibido la recolección de moluscos bivalvos o la haya sometido a condiciones especiales para garantizar que no se comercializan productos nocivos para la salud humana.
2. Además de la supervisión de las zonas de reinstalación y de producción a las que se hace referencia en el punto 1 de la parte B, deberá establecerse un sistema de control que incluya pruebas de laboratorio para verificar el cumplimiento por parte de todos los operadores de empresa alimentaria de los requisitos establecidos para los productos finales en todas las etapas de la producción, la transformación y la distribución. Este sistema de control servirá, en particular, para comprobar que los niveles de biotoxinas marinas y contaminantes no rebasan los límites de seguridad y que la calidad microbiológica de los moluscos no constituye un peligro para la salud humana.

E. REGISTRO E INTERCAMBIO DE INFORMACIÓN

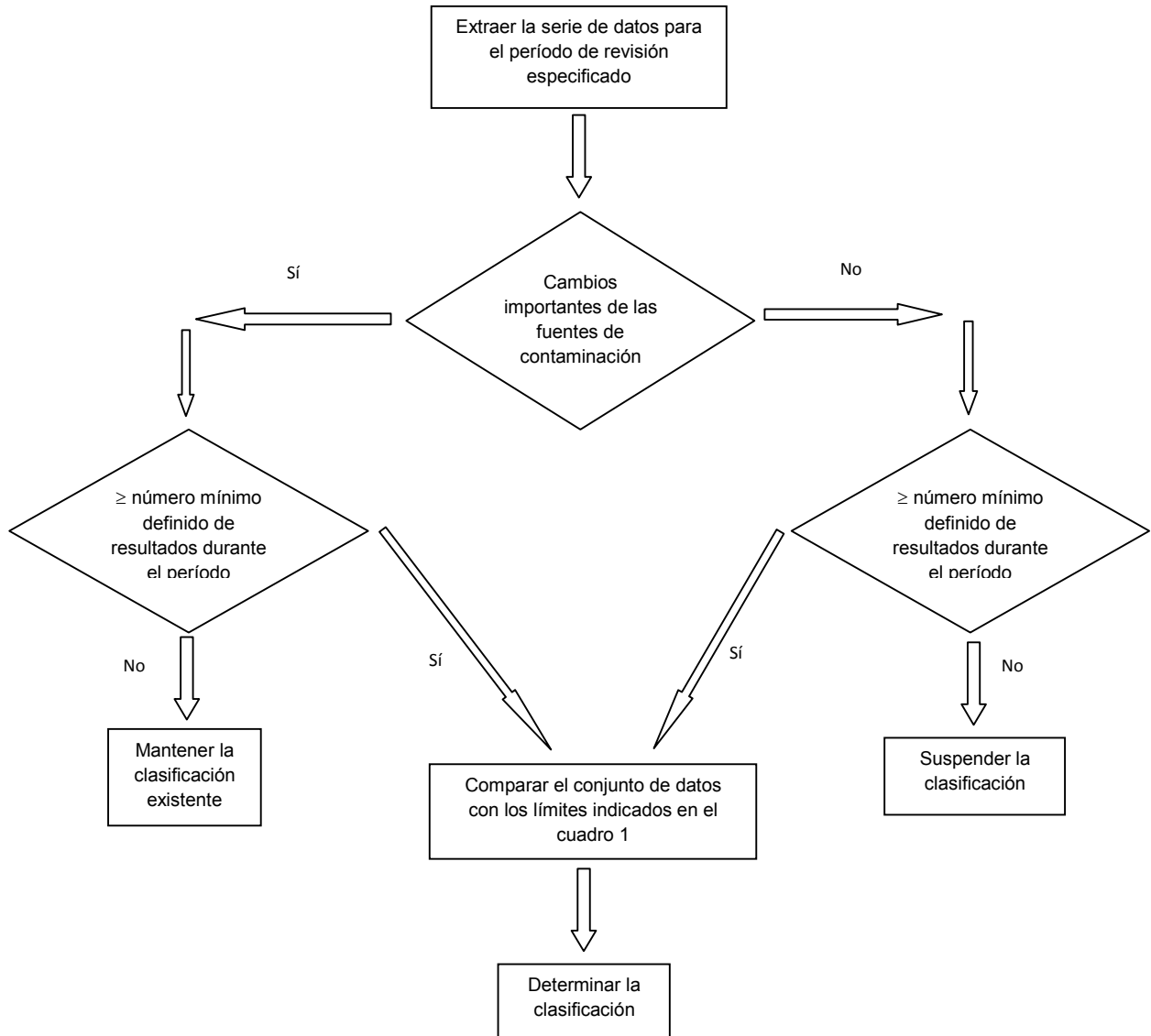
La autoridad competente debe:

- a) elaborar y mantener actualizada una lista de las zonas de producción y reinstalación autorizadas (indicando su localización, sus límites y la clase a la que corresponden), en las que pueden recolectarse moluscos bivalvos vivos de acuerdo con los requisitos del presente anexo. Dicha lista debe ser comunicada a las partes afectadas por el presente anexo, como son los productores, los recolectores y los operadores de los centros de depuración y de expedición;
- b) informar inmediatamente a las partes afectadas por el presente anexo, como los productores, recolectores y operadores de centros de depuración y de expedición, de cualquier cambio en la localización, límites o clase de una zona de producción, o de su cierre temporal o definitivo,
- y
- c) actuar con premura si los controles prescritos en el presente anexo indican que ha de cerrarse o ser reclasificada o que puede reabrirse una zona de producción».

F. CONTROLES DE LOS PROPIOS OPERADORES DE EMPRESA ALIMENTARIA

Para decidir la clasificación, la apertura o el cierre de zonas de producción, la autoridad competente podrá tener en cuenta los resultados de los controles llevados a cabo por los operadores de empresa alimentaria o por organizaciones que los representen. En ese caso, la autoridad competente deberá haber designado el laboratorio que efectuará los análisis y, si procede, los muestreos y análisis deberán haberse efectuado siguiendo un protocolo que haya sido acordado entre la autoridad competente y los operadores de empresa alimentaria u organizaciones afectados».

Figura 4. Interpretación de los datos para la clasificación de las zonas de recolección



7.3 Recomendaciones:

7.3.1 Interpretación de los datos del programa de control

La interpretación tiene como finalidad establecer o mantener la clasificación de las zonas de producción o de reinstalación:

- Deben evaluarse todos los resultados para verificar el cumplimiento de los criterios presentados en la tabla 1.
- Cada una de las zonas de recolección clasificadas debe:
 - estar determinada por límites geográficos específicos;
 - constituir una zona homogénea con respecto al vivero y a la calidad microbiológica;
 - ser una zona cuya conformidad pueda garantizarse por separado.
- Criterios para establecer una clasificación inicial de una nueva zona de recolección:
 - La autoridad competente debe establecer un número mínimo de resultados y un período de tiempo mínimo^a en el que deben obtenerse, para garantizar que la clasificación inicial refleja efectivamente la calidad microbiológica de los viveros de moluscos bivalvos.
 - Los resultados de los análisis de los moluscos bivalvos obtenidos en puntos de control pertinentes y representativos durante un estudio sanitario pueden contribuir a conseguir esta serie de datos.
- Control posterior a la clasificación inicial
 - Los datos obtenidos a raíz del muestreo deben revisarse continuamente para poder determinar si debe seguir aplicándose la clasificación preliminar.
 - La autoridad competente debe establecer un número mínimo de resultados y un período de tiempo mínimo^b en el que deben obtenerse, para garantizar que la clasificación establecida refleja adecuadamente los efectos estacionales y medioambientales.
- Clasificaciones establecidas:
 - Los resultados correspondientes a cada punto de muestreo deben revisarse periódicamente.
 - La autoridad competente debe establecer el número mínimo de resultados necesario para la revisión y el mantenimiento de la clasificación.
 - La autoridad competente puede establecer un número mínimo de resultados necesario más bajo para mantener la clasificación de una zona de recolección designada como estable^g.
 - Cuando no haya resultados disponibles para determinados muestreos identificados en el plan de muestreo, deben justificarse los motivos de esa ausencia de resultados de forma explícita y documentada.
 - Si se han dado cambios significativos en las fuentes de contaminación (como, por ejemplo, cambios conocidos significativos en las disposiciones de la descarga de aguas residuales), solo deben incluirse en la revisión los datos obtenidos a partir de esos cambios.
- Si se utilizan clasificaciones que reflejen variaciones estacionales coherentes («clasificaciones estacionales»), estas deben:
 - estar basadas en una serie de datos amplia, que muestre la existencia de diferencias claras y significativas en el grado de contaminación en las distintas épocas del año;
 - comportar un período intrínseco de equilibramiento^h previo al período clasificado como el de menor grado de contaminación para permitir que la depuración natural de patógenos refleje la nueva clasificación.
- Evaluación de los datos

- En el caso de las clasificaciones iniciales, establecidas y estacionales, los datos de control deben evaluarse en función de los criterios expuestos en el anexo II del Reglamento (CE) nº 854/2004 (modificado) y deben cumplir dichos criterios.

7.3.2 Un solo punto o múltiples puntos de muestreo representativos en las zonas de recolección clasificadas

- Un solo punto de muestreo
 - La clasificación de la zona debe hacerse tomando como base los resultados de un solo punto de muestreo, tal como se ha descrito anteriormente
- Múltiples puntos de muestreo
 - Los resultados de cada punto de muestreo deben evaluarse como se describe en la sección 7.3.1.
 - Si se observan diferencias entre los distintos puntos de muestreo, la clasificación de una zona con respecto a una especie determinada debe basarse en la peor clasificación obtenida de todos los puntos de muestreo (es decir, la más contaminada) para esa especie o para la especie indicadora que la representa.

7.3.3 Resultados anómalos

Los resultados pueden considerarse anómalos y ser excluidos de la serie de datos que se utiliza para determinar clasificación si se ha producido alguno de los siguientes problemas:

- No se han seguido los protocolos de muestreo (por ejemplo, no se han cumplido los requisitos de tiempo o de temperatura) y la autoridad responsable del programa de control estima que eso puede afectar significativamente al resultado microbiológico:
 - debe incluirse una muestra adicional, aleatoria, en el plan de muestreo de ese año;
 - todos los resultados (ya sean altos o bajos) afectados por el fallo en el protocolo deben excluirse de la serie de datos.
- Ha habido un fallo en el alcantarillado o en los sistemas de tratamiento de aguas residuales que se ha solucionado y la autoridad responsable del control de la contaminación no espera que se vuelva a repetir.
 - bien
- Se ha producido un episodio de lluvias con un período de retorno de cinco años o más y la autoridad responsable del programa de control estima que ha tenido, o puede tener, un impacto importante en la situación microbiológica de la zona de recolección.
 - En este caso debe analizarse la conveniencia de tomar más muestras para investigar la situación y adoptar medidas de control a corto plazo en la zona de recolección.

7.3.4 Procedimientos de control de alerta

Debe iniciarse un procedimiento de alerta si:

- en un punto de muestreo se superan los valores siguientes
 - Clase A: 230 *E. coli* por cada 100 g de carne y líquido intervalvar
 - Clase B: 4 600 *E. coli* por cada 100 g de carne y líquido intervalvar
 - Clase C: 46 000 *E. coli* por cada 100 g de carne y líquido intervalvar

esto debe incluir los resultados de las propias verificaciones de control de la industria del sector en los centros de depuración y de expedición o los resultados de las muestras de auditoría tomadas por la autoridad competente;

- ha habido un episodio de contaminación o condiciones climáticas adversas extremas en la zona;

- se recibe información sobre la relación, o posible relación, de la zona de recolección con el brote de una enfermedad;
- los fallos detectados en un producto acabado indican la posibilidad de una contaminación general en la zona de recolección.

El procedimiento de alerta debe incorporar los elementos siguientes:

- Muestreos de investigación, que deben promoverse en cuanto se conoce el resultado.
- Muestreos más frecuentes (si hay en marcha controles de recolección a corto plazo, los resultados que se obtengan durante el período de cierre pueden excluirse de la serie de datos que se emplea para la revisión de la clasificación, pero no los resultados iniciales obtenidos cuando aún no se había producido el cierre)
- La revisión de la serie de datos de control
- La investigación del episodio de contaminación
- La valoración de la conveniencia de adoptar controles a corto plazo para proteger la salud pública
- La notificación de los organismos oficiales y comerciales pertinentes a escala local, regional y nacional

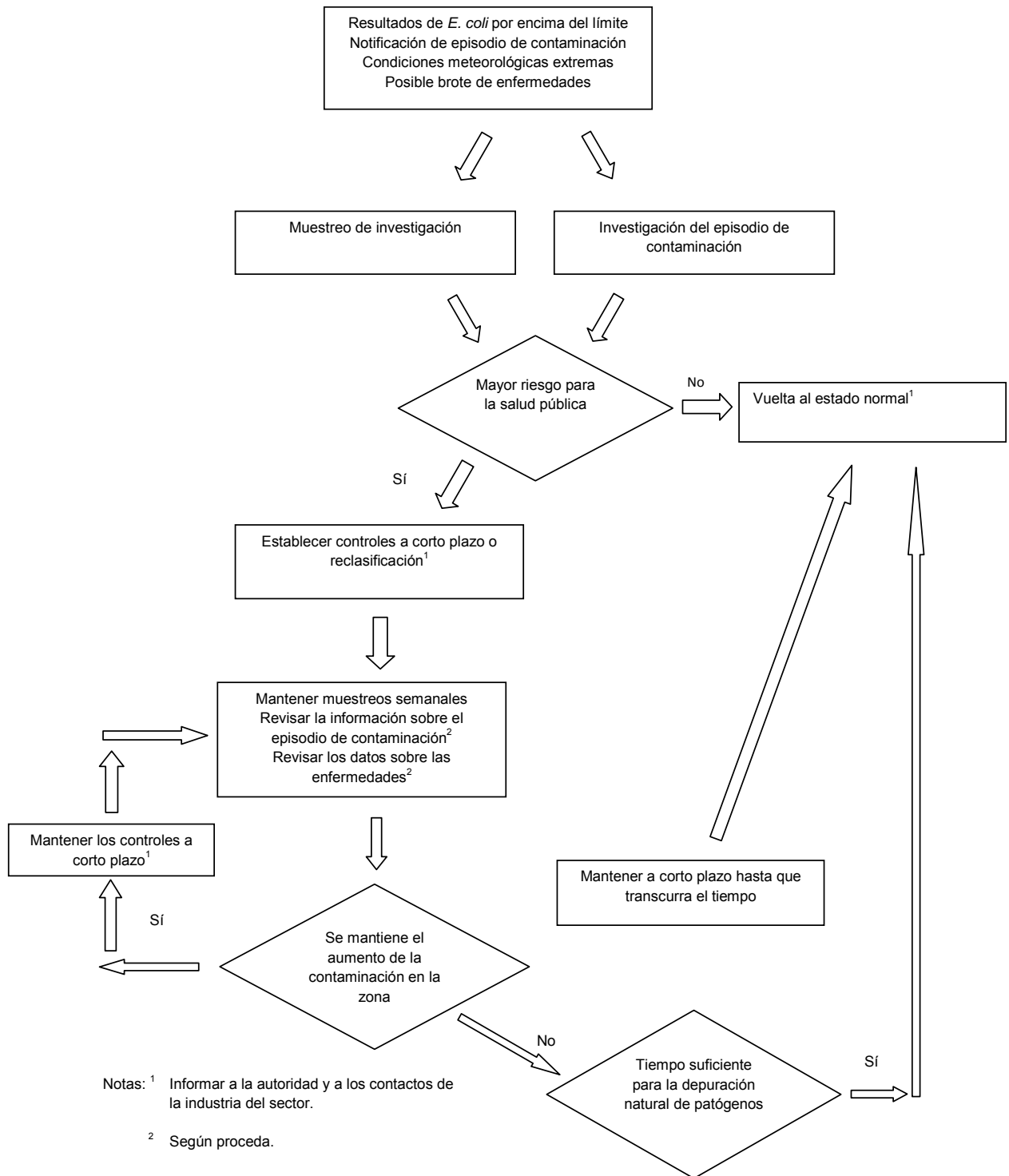
Nota: en las zonas de clase B con resultados que oscilan entre 4 600 y 46 000 *E. coli* por 100 g de carne y líquido intervalvar, la autoridad competente, a la hora de decidir las medidas que deben adoptarse, debe considerar esos resultados en el contexto del cumplimiento legislativo tanto histórico como en ese momento.

La figura 4 contiene un ejemplo de un diagrama de flujos de un procedimiento de alerta.

7.4 Resultado

Esta sección pretende ayudar a la autoridad competente a revisar los datos de control en el marco del control oficial y a determinar una clasificación solvente desde el punto de vista científico o el cambio de clasificación necesario. Asimismo, aborda la aplicación de controles adicionales a corto plazo en el caso de obtenerse resultados anormalmente altos o producirse episodios de contaminación o incidentes que afecten a la salud pública.

FIGURA 5. PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE ALERTA (EJEMPLO DE DIAGRAMA DE FLUJOS)



8. RESUMEN

Las recomendaciones de esta guía constituyen el marco para la elaboración de un programa de control microbiológico científico sistemático en el marco del control oficial de los moluscos bivalvos en las zonas de recolección de conformidad con el Reglamento (CE) nº 854/2004. Esta guía de ámbito europeo, destinada a las autoridades competentes, pretende contribuir a que los programas de los Estados miembros proporcionen niveles equivalentes de protección de la salud pública y faciliten el libre comercio en la UE. El laboratorio europeo de referencia para el control de la contaminación bacteriológica y viral de los moluscos bivalvos ha publicado una guía técnica (Anon 2013, que se puede descargar en www.eurlcefas.org) que proporciona ayuda práctica adicional para aplicar los principios definidos en esta guía.

La red de laboratorios de referencia para el control de la contaminación bacteriológica y viral de los moluscos bivalvos puede proporcionar más orientación sobre la aplicación de los programas de control microbiológico de los moluscos bivalvos. Concretamente, las autoridades competentes y otras organizaciones participantes en estos programas de control pueden solicitar asesoramiento a los respectivos laboratorios nacionales de referencia (la información de contacto puede consultarse en www.eurlcefas.org).

9. REFERENCIAS

Anon 2013. Microbiological Monitoring of Bivalve Mollusc Harvesting Areas - Guide to Good Practice: Technical Application. Issue 5. Available at www.eurlcefas.org.

European Communities 2004. Regulation (EC) No 882/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules. *Off. J. Eur. Communities* L 165, 30.4.04: 1-141.

European Communities 2004. Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific rules for food of animal origin. *Off. J. Eur. Communities* L 226, 25/06/2004: 22-82.

European Communities 2004. Regulation (EC) No 854/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific rules for the organisation of official controls on products of animal origin intended for human consumption. *Off. J. Eur. Communities* L 226, 25/06/2004: 83-127.

European Communities 2005. Commission Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs. *Off. J. Eur. Communities* L338, 22.12.05: 1-26.

European Communities 2005. Commission Regulation (EC) No 2074/2005 laying down implementing measures for certain products under Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council and for the organisation of official controls under Regulation (EC) No 854/2004 of the European Parliament and of the Council and Regulation (EC) No 882/2004 of the European Parliament and of the Council, derogating from Regulation (EC) No 852/2004 of the European Parliament and of the Council and amending Regulations (EC) No 853/2004 and (EC) No 854/2004. *Off. J. Eur. Communities* L338, 22.12.2005: 27-59.

European Communities 2008. Commission Regulation (EC) No 1021/2008 amending Annexes I, II and III to Regulation (EC) No 854/2004 of the European Parliament and of the Council laying down specific rules for the organisation of official controls on products of animal origin intended for human consumption and Regulation (EC) no 2076/2005 as regards live bivalve mollusc, certain

fishery products and staff assisting with official controls in slaughterhouses. *Off. J. Eur. Communities* L227, 18.10.08: 15-17.

ISO 2007. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs — General rules for microbiological examinations. International Organization for Standardization, Geneva.

ISO 2003. ISO 6887-3. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products. International Organization for Standardization, Geneva.

ISO 2003. EN ISO 16140. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Protocol for the validation of alternative methods. International Organization for Standardization, Geneva.

ISO 2005. ISO TS 16649-3 – Microbiology of food and animal feeding stuffs – Enumeration of β -glucuronidase positive *Escherichi coli* – part 3: Most Probable Number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide acid. International Organization for Standardization, Geneva.

ISO 2005 ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. International Organization for Standardization, Geneva.

10. ANEXO 1. FRECUENCIAS, PERÍODOS Y MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA *E. COLI* RECOMENDADOS

Nota en el texto	Frecuencia recomendada
a	Para la clasificación inicial de una zona: al menos doce muestras en cada punto de muestreo, tomadas a lo largo de un período no inferior a seis meses con intervalos de dos semanas o más entre cada toma. Si el estudio sanitario determina que no hay fuentes de contaminación significativas (zonas remotas), al menos seis muestras tomadas a lo largo de un período no inferior a tres meses, con intervalos de una semana o más entre cada toma. Si la recolección tiene lugar únicamente durante un período restringido obligatorio, la toma de muestras puede limitarse a este período, justo antes de la recolección (dos meses antes para la clase C y un mes antes para las clases A y B).
b	Después de la clasificación inicial el control debe hacerse al menos cada quince días, hasta que existan datos de todo un año (incluyendo los que se utilizaron para establecer la clasificación inicial). Como alternativa puede realizarse un control mensual, complementado con muestreos adicionales si se dan peores condiciones (como fuertes lluvias, tormentas o elevados caudales fluviales). Si la recolección tiene lugar únicamente durante un período restringido obligatorio, véase la nota a.
c	Control continuo: al menos mensual en los sitios en los que se tienen datos de menos de tres años. Si la recolección tiene lugar únicamente durante un período restringido obligatorio, véase la nota a.
d	En las zonas estables: en los sitios de los que se tienen datos de más de tres años y se consideran estables (véase la guía Anon 2013) puede reducirse la frecuencia a una vez cada dos meses. Si la recolección tiene lugar únicamente durante un período restringido obligatorio, véase la nota a.
e	Comienzo del muestreo en las zonas de reinstalación: al menos dos semanas después de la reinstalación de los animales.
f	Serie de datos mínima en la revisión para mantener la clasificación: al menos veinticuatro resultados durante un período de tres años (o prorrateo si el período es más corto).
g	Serie de datos mínima en la revisión para el mantenimiento de la clasificación en las zonas designadas como estables: al menos doce resultados durante un período de tres años (o prorrateo si el período es más corto).
h	Período intrínseco de equilibramiento (reinstalación) para las clasificaciones estacionales: dos meses para la clase C que pasa a clase B y un mes para la clase B que pasa a clase A.
i	Control de investigación: se recomienda un control como mínimo semanal.
k	Método para la medición de la impedancia: protocolo genérico del laboratorio europeo de referencia: enumeración de <i>Escherichia coli</i> en moluscos bivalvos vivos mediante técnicas de impedancia directas con el analizador de series Bac Trac 4 300. Edición actual. http://www.crlcefas.org/InformationCentre/docs/E_coli_enumeration_BacTrac_impedance_technique_v1_08_06_11_issue_01.pdf
l	Método de recuento de colonias: protocolo genérico del laboratorio europeo de referencia: enumeración de <i>Escherichia coli</i> en moluscos bivalvos vivos mediante la técnica de recuento de colonias (basada en la norma ISO 16649-2). Edición actual. http://www.crlcefas.org/InformationCentre/docs/Issue_2_EURL_SOP_E_coli_TBX_final.pdf

ANEXO 2. REQUISITOS ADICIONALES PARA LAS ZONAS DE PRODUCCIÓN EN LAS QUE SE RECOLECTAN MOLUSCOS BIVALVOS VIVOS PARA SU EXPORTACIÓN A LOS ESTADOS UNIDOS

A2.1 Introducción

La UE y los Estados Unidos han acordado condiciones oficiales para el comercio bilateral de moluscos bivalvos de conformidad con los marcos legales respectivos de los reglamentos europeos (especificados en esta guía) y del Programa Nacional de Sanidad de los Mariscos de los Estados Unidos (FDA, 2013). Este acuerdo comercial se refiere a determinadas zonas de producción de la UE y los Estados Unidos que han sido designadas, enumeradas y acordadas por las autoridades de la Dirección General de Salud y Consumidores (DG Sanco) de la Comisión Europea, respecto a las zonas de la UE, y la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA), respecto a las zonas de los Estados Unidos. Al acordar este comercio, las autoridades de ambas partes han exigido algunas garantías adicionales para garantizar el cumplimiento de diversos aspectos de sus legislaciones respectivas. En este anexo se presentan los requisitos adicionales aplicables a los moluscos bivalvos producidos en la UE y exportados a los Estados Unidos en virtud de este acuerdo comercial (no incluye los requisitos adicionales aplicables a los productos de los Estados Unidos que se exportan a la UE). En lo que respecta a la protección frente a la contaminación fecal, la FDA ha exigido garantías adicionales que han sido aceptadas tanto por la Comisión Europea como por los Estados miembros que desean exportar estos productos. Estas garantías adicionales implican que:

1. todos los moluscos bivalvos vivos que se exporten a los Estados Unidos desde la UE deben ser originarios de zonas de producción enumeradas y acordadas específicamente;
2. todos los moluscos bivalvos vivos que se exporten a los Estados Unidos desde la UE deben pertenecer a una zona de producción perteneciente a la clase A de forma permanente;
3. en las zonas de producción enumeradas deben haberse aplicado todas las recomendaciones de esta guía de ámbito europeo y de la Guía de buenas prácticas: aplicación técnica, edición 5 (Anon 2103), incluido un estudio sanitario completo;
4. antes de la exportación deben haberse aplicado los requisitos adicionales relacionados con las zonas tampón que se mencionan en este anexo en todas las zonas de producción enumeradas.

Cabe señalar que la FDA ha manifestado su intención de llevar a cabo una auditoría *in situ* de las zonas de producción enumeradas, con el fin de comprobar que cumplen los requisitos indicados antes de aceptar las exportaciones.

En este anexo se presentan los requisitos adicionales referentes al caso 4 (zonas tampón). Siguiendo los principios generales adoptados en las directrices europeas, se presenta una síntesis de los requisitos; las recomendaciones técnicas sobre cómo cumplirlos se incluyen en el anexo 5 de la Guía de buenas prácticas: aplicación técnica, edición 5 (Anon 2103). La FDA ha dado su visto bueno al texto que figura tanto en este anexo como en el anexo 5 de la guía técnica.

Las zonas tampón alrededor de las fuentes de aguas residuales de origen humano (como los desagües de las alcantarillas o los puertos deportivos), donde no se permite la recolección, constituyen uno de los requisitos explícitos del Manual de Operaciones del Programa Nacional de Sanidad de los Mariscos (FDA, 2013). La designación de dichas zonas es una medida preventiva de salud pública, principalmente de protección frente a la contaminación de los moluscos con virus entéricos humanos, como el norovirus y el virus de la hepatitis A. Su designación refleja el hecho de que el control habitual de los indicadores fecales no es necesariamente fiable para indicar el riesgo para la salud pública en estas condiciones, especialmente cuando las descargas son de aguas residuales tratadas. Se sabe que las bacterias indicadoras fecales tienen

características de supervivencia diferentes a las de los virus entéricos, tanto durante el proceso de tratamiento de aguas residuales como en el medio marino. Actualmente, estas zonas tampón no constituyen un requisito explícito de la legislación de la UE, pero puede considerarse que quedan cubiertas por la disposición de carácter general del Reglamento (CE) nº 854/2004 (letra C, punto 1, del capítulo II del anexo II), que establece que «si los resultados del muestreo indican que no se cumplen las normas sanitarias establecidas para los moluscos, o que puede haber cualquier otro tipo de riesgo para la salud humana, la autoridad competente deberá cerrar la zona de producción afectada a la recolección de moluscos bivalvos vivos».

A2.2 Requisito de las zonas tampón en torno a las descargas de aguas residuales

El requisito legal de los Estados Unidos sobre las zonas tampón en torno a los puntos de descarga de aguas residuales, en función del cual la FDA efectuará sus auditorías, está establecido en el punto 03 E(5) del capítulo IV de la sección II del Manual de Operaciones del Programa Nacional de Sanidad de los Mariscos (FDA, 2013):

5) Descargas de aguas residuales.

a) Se establecerá una zona clasificada como prohibida contigua a cada punto de descarga de las estaciones depuradoras de aguas residuales y en cualquier punto de descarga que pueda resultar significativo para la salud pública.

b) Para determinar el tamaño que deben tener las zonas contiguas a cada punto de descarga que deban clasificarse como prohibidas han de tenerse en cuenta al menos los siguientes criterios:

i) el caudal volumétrico, la localización del punto de descarga, el rendimiento de la estación depuradora y la calidad bacteriológica o viral del efluente;

ii) el grado de descomposición de los contaminantes de importancia para la salud pública en las aguas vertidas;

iii) el grado de dispersión y dilución de las aguas residuales y el tiempo de transporte de dichas aguas a la zona de la que puede recolectarse el marisco;

iv) la localización del marisco, la clasificación de las aguas contiguas y la presencia de puntos de referencia o límites identificables.

Por defecto, el cálculo de las zonas tampón se basa en la presunción de la existencia de fallos en las condiciones de descarga (por ejemplo, fallos en el tratamiento de una estación depuradora). Si la extensión de la zona tampón se determina de acuerdo con la protección que ofrece el efluente tratado (por ejemplo, de una estación depuradora), debe existir un «plan de gestión» oficial escrito. Este requisito legal está establecido en el punto 03 C(2)(a) del capítulo IV de la sección II del Manual de Operaciones del Programa Nacional de Sanidad de los Mariscos de los Estados Unidos (FDA, 2013):

2) Plan de gestión obligatorio. Debe elaborarse un plan de gestión, para cada zona de cría, que incluya los siguientes elementos:

a) Respecto a las estaciones depuradoras de aguas residuales, normativas de funcionamiento que incluyan:

i) picos de flujo, media de flujos y flujo de infiltración de los efluentes;

ii) calidad bacteriológica o viral de los efluentes;

iii) calidad física y química de los efluentes;

iv) condiciones que pueden originar fallos en la estación depuradora;

v) desviaciones de la estación o del sistema colector;

vi) diseño, construcción y mantenimiento para reducir al mínimo la posibilidad de un fallo mecánico o de sobrecarga;

vii) medidas para el control y la inspección de la estación depuradora;

viii) establecimiento de una zona clasificada como prohibida contigua al punto de descarga de la estación depuradora, de acuerdo con la clasificación de prohibición de la letra E.

- b) Respecto a los planes de gestión de otras fuentes de contaminación que no sean estaciones depuradoras de aguas residuales:*
- i) estándares de rendimiento que predican de forma fiable cuándo se cumplen los criterios de clasificación condicional;*
 - ii) discusión y datos que acrediten estos estándares de rendimiento.*

A2.3 Requisito de zonas tampón en torno a los puertos deportivos

El requisito legal de los Estados Unidos sobre las zonas tampón en torno a los puertos deportivos próximos a los viveros de marisco está establecido en el punto 05 (Puertos deportivos) del capítulo IV de la sección II del Manual de Operaciones del Programa Nacional de Sanidad de los Mariscos de los Estados Unidos (FDA, 2013):

5. Puertos deportivos

A. En el propio puerto. La zona de un puerto deportivo que se encuentre dentro de un vivero de marisco o sea contigua a él se clasificará en una de las categorías siguientes:

- 1) Aprobada con condiciones*
- 2) Restringida con condiciones*
- 3) Prohibida*

B. En las aguas contiguas. Las aguas contiguas a las de los puertos deportivos clasificados de acuerdo con la letra A pueden verse afectadas por la contaminación asociada a dichos puertos, por lo que:

- 1) deberá efectuarse un análisis de dilución para determinar si hay algún tipo de impacto sobre las aguas contiguas;*
- 2) el análisis de dilución se basará en el volumen de agua en las proximidades del puerto deportivo;*
- 3) el análisis de dilución incorporará los elementos siguientes:*
 - a) la tasa de ocupación del puerto*
 - b) la tasa real o estimada de las embarcaciones que van a descargar aguas residuales sin tratar*
 - c) la tasa de ocupación de cada embarcación (número de personas por embarcación)*
 - d) una tasa diaria de descarga de coliformes fecales de 2×10^9*
 - e) la presunción de que las aguas residuales se mezclan totalmente en el volumen de agua dentro y alrededor del puerto*
- 4) si el análisis de dilución determina una carga teórica de coliformes fecales superior a 14 NMP por cada 100 ml, la zona circundante al puerto deportivo se clasificará en una de las categorías siguientes:*
 - a) Aprobada con condiciones*
 - b) Restringida*
 - c) Restringida con condiciones*
 - d) Prohibida*
- 5) si el análisis de dilución determina una carga teórica de coliformes fecales inferior o igual a 14 NMP por cada 100 ml, la zona circundante al puerto deportivo se clasificará en una de las categorías siguientes:*
 - a) Aprobada*
 - b) Aprobada con condiciones*
- 6) si la autoridad competente decide no determinar una tasa de ocupación específica para cada embarcación mediante una investigación en determinadas zonas o lugares, considerará una tasa de ocupación mínima de dos personas por embarcación.*

A2.4 Recomendación

En virtud de los acuerdos firmados entre la DG Sanco de la Comisión Europea y la FDA de los Estados Unidos durante las negociaciones comerciales, las autoridades competentes de los Estados miembros de la UE que exporten moluscos bivalvos a los Estados Unidos deben:

- designar y delimitar las zonas cuyos productos se quieren exportar;
- llevar a cabo un estudio sanitario de las zonas designadas a tal fin, siguiendo las indicaciones del capítulo 2 de esta guía y de la Guía de buenas prácticas: aplicación técnica (Anon 2103);
- llevar a cabo los procedimientos de muestreo, análisis y clasificación siguiendo las indicaciones de esta guía y de la Guía de buenas prácticas: aplicación técnica (Anon 2103);
- establecer zonas tampón en torno a los puntos de descarga de aguas residuales que afectan a las zonas designadas que se hayan identificado en el estudio sanitario;
- determinar el tamaño de las zonas tampón en función de la dilución exigida para cumplir la norma bacteriológica de 14 coliformes fecales o *E. coli* por 100 ml de agua, según un cálculo teórico, en el punto más próximo de la zona designada para la exportación:
 - por defecto, el cálculo debe basarse en la carga en el peor caso, a saber, efluentes sin tratar en el caso de descargas de estaciones depuradoras;
 - si, en cambio, es deseable llevar a cabo cálculos de dilución de las descargas de efluentes tratados:
 - debe elaborarse un plan de gestión que especifique qué medidas de gestión del riesgo se van a tomar para evitar la exportación del producto en caso de fallo del tratamiento;
 - la zona tampón debe incorporar una dilución mínima del efluente de 1:1 000 en todos los casos; o
 - deben utilizarse otras medidas contrastadas que ofrezcan un grado de protección equivalente frente a los virus entéricos (como la evaluación viral directa);
- excluir los puertos deportivos de toda zona designadas para la exportación;
- establecer zonas tampón en las aguas contiguas a los puertos deportivos, siguiendo los mismos principios que los aplicados para las descargas de aguas residuales (cálculos teóricos que cumplen la norma de 14 coliformes fecales o *E. coli* por 100 ml de agua);
- demostrar que las zonas designadas cumplen los criterios de pertenencia permanente a la clase A en lo que respecta a la carne de los moluscos bivalvos.

Puede consultarse más información técnica sobre el establecimiento de las zonas tampón, según los requisitos de la legislación de los Estados Unidos (incluyendo las presunciones de cálculo permitidas) en el anexo 5 de la Guía de buenas prácticas: aplicación técnica, edición 5 (Anon 2103).

A2.5 Resultado

Al finalizar esta fase, la autoridad competente debe haber designado y delimitado las zonas que cumplen los requisitos de los acuerdos comerciales de exportación a los Estados Unidos. Estas zonas deben haberse sometido a un estudio sanitario y a un muestreo y haberse clasificado siguiendo las recomendaciones de la UE. Además, deben haberse establecido zonas tampón en torno a los puntos de descarga de aguas residuales de origen humano y los puertos deportivos, de tal forma que pueda demostrarse que todas las zonas de recolección designadas para la exportación a los Estados Unidos cumplen la normativa de ese país sobre las aguas de las zonas de exportación aprobadas. Si es necesario, se elaborarán planes de gestión que especifiquen los procedimientos de control de la contaminación en los lugares en que se han establecido zonas tampón condicionadas a la realización de dichos controles.

A2.6 Referencia

Anon 2013. Microbiological Monitoring of Bivalve Mollusc Harvesting Areas - Guide to Good Practice: Technical Application. Edición 5. Se puede descargar en www.eurlcefas.org.

FDA, 2013. National Shellfish Sanitation Program (NSSP): Guide for the Control of Molluscan Shellfish. 2011 Revision. U. S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration.