

revista del
Comité
Científico de la aesan

Nº 39

agencia española de seguridad alimentaria y nutrición
agencia española de seguridad alimentaria y nutrición
agencia española de seguridad alimentaria y nutrición
agencia española de seguridad alimentaria y nutrición
agencia española de seguridad alimentaria y nutrición



Revista del Comité Científico de la AESAN

Madrid, 2024

revista del
Comité
Científico de la aesan

Nº 39

Nota: los informes que se incluyen a continuación son el resultado de las consultas que la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y otras instituciones hacen al Comité Científico. Esta revista y sus informes se presentan conforme a

normas de presentación y publicación de bibliografía científica internacionalmente aceptadas. De ello se deriva, entre otras, la necesidad de abordar su estudio e interpretación desde la consideración ineludible de las citas bibliográficas referenciadas en el texto

y enumeradas en el apartado "Referencias" que incluye al final de los informes. Lo contrario, además de dificultar su comprensión integral, pudiera llevar a extraer, conclusiones parciales o equivocadas, divergentes del informe en su conjunto.

Consejo Editorial Científico

Presidenta

Ana María Rivas Velasco - (Universidad de Granada)

Vicepresidente

Antonio Valero Díaz - (Universidad de Córdoba)

Concepción María Aguilera García - (Universidad de Granada)

Houda Berrada Ramdani - (Universitat de València)

Irene Bretón Lesmes - (Hospital Gregorio Marañón de Madrid)

Rosa María Capita González - (Universidad de León)

Araceli Díaz Perales - (Universidad Politécnica de Madrid)

María Pilar Guallar Castellón - (Universidad Autónoma de Madrid)

Ángel Gil Izquierdo - (Consejo Superior de Investigaciones Científicas)

Ángel Gutiérrez Fernández - (Universidad de La Laguna)

Isabel Hernando Hernando - (Universitat Politècnica de València)

Baltasar Mayo Pérez - (Consejo Superior de Investigaciones Científicas)

Azucena del Carmen Mora Gutiérrez - (Universidad de Santiago de Compostela)

Gema Nieto Martínez - (Universidad de Murcia)

Silvia Pichardo Sánchez - (Universidad de Sevilla)

María del Carmen Recio Iglesias - (Universitat de València)

María Dolores Rodrigo Aliaga - (Consejo Superior de Investigaciones Científicas)

María de Cortes Sánchez Mata - (Universidad Complutense de Madrid)

Gloria Sánchez Moragas - (Consejo Superior de Investigaciones Científicas)

María Roser Vila Casanovas - (Universitat de Barcelona)

Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Coordinadores de la edición

Ricardo López Rodríguez

Paula Arrabal Durán

Edita

© Ministerio de Derechos Sociales, Consumo y Agenda 2030
Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN)
<https://cpage.mpr.gob.es/>

NIPO: 236-24-020-9

ISSN: 2695-4443

Fecha de edición: 2024

Diseño y maquetación: Editorial MIC

Índice

Prólogo	9
Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre los criterios microbiológicos para <i>Vibrio cholerae</i> aplicables, como medidas adicionales de control en los puestos de control fronterizos, a langostinos y otros productos de la pesca congelados importados	11
Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación con el riesgo asociado al consumo de complementos alimenticios que contienen creatina como ingrediente	47
Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la programación de toma de muestras de peligros biológicos en los controles oficiales	63

La divulgación científica tiene un papel clave en un mundo como el actual, en el que la sobrea-bundancia informativa hace muy difícil discernir cuál de esa información es fiable. La comunidad científica tiene el enorme desafío de hacer llegar a la sociedad sus hallazgos y avances de manera accesible y atractiva. La información engañosa o deliberadamente falsa ha de aplacarse ofreciendo datos con rigor y un lenguaje cercano y comprensible, que haga posible una sociedad más concienciada, informada y capaz de tomar decisiones basadas en un conocimiento crítico.

De ahí que sea fundamental contar en la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) con un Comité Científico formado por personas con una contrastada experiencia, conocimiento y trayectoria. Dicho Comité juega un papel indispensable a la hora de aportar luz sobre las decisiones que atañen a la gestión en seguridad alimentaria y nutrición, y que se basan en un fundamento sólido y actualizado de conocimiento científico. La independencia de las personas que conforman parte del Comité Científico es un requisito imprescindible, respetándose y promoviéndose que las opiniones que se expresan a través de sus informes respondan únicamente a sus criterios científicos.

El año pasado se celebraron los 20 años de la constitución del Comité Científico y el próximo año se celebrarán 20 años desde la publicación del primer número de su canal de información, la Revista del Comité Científico de la AESAN. Ha logrado una gran difusión incluso a nivel internacional, con la traducción completa al inglés de sus informes, y recientemente, desde 2023, por su inclusión en la *Revista Food Risk Assess Europe* de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria.

En este número 39 se incluyen tres informes sobre distintas cuestiones relacionadas con la seguridad de los alimentos. El primero se refiere a los criterios microbiológicos para *Vibrio cholerae* aplicables como medidas adicionales de control en los puestos de control fronterizos a langostinos y otros productos de la pesca congelados importados. Este informe ayudará a la toma de decisiones en frontera ante la falta de criterios a nivel de la Unión Europea para las especies de *Vibrio*.

El segundo informe valora el riesgo asociado al consumo de complementos alimenticios que contienen creatina como ingrediente en una cantidad diaria máxima para la que se pueden realizar, de acuerdo con la legislación de la Unión Europea, declaraciones de propiedades saludables.

Finalmente, el tercer informe analiza los criterios para la programación de toma de muestras de peligros biológicos en los controles oficiales. En él, el Comité Científico valora la adecuación del diseño de la programación de la toma de muestras a nivel nacional realizado por la AESAN para llevar a cabo los controles oficiales de alimentos en función del riesgo, teniendo en cuenta los criterios de impacto en salud y de prevalencia.

Además de agradecer al Comité Científico su trabajo, me gustaría reconocer la labor de servicio público que prestan sus miembros a la sociedad española, es un compromiso que se suma a su actividad docente e investigadora y que resulta esencial para nuestra Agencia.

Andrés Barragán Urbiola
Presidente de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición
Secretario General de Consumo y Juego
Ministerio de Derechos Sociales, Consumo y Agenda 2030

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre los criterios microbiológicos para *Vibrio cholerae* aplicables, como medidas adicionales de control en los puestos de control fronterizos, a langostinos y otros productos de la pesca congelados importados

Número de referencia: AESAN-2024-001

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 14 de marzo de 2024

Grupo de trabajo

Antonio Valero Díaz (Coordinador), Rosa María Capita González, Baltasar Mayo Pérez, Azucena del Carmen Mora Gutiérrez y María Dolores Rodrigo Aliaga

Comité Científico

Concepción María Aguilera García Universidad de Granada	María Pilar Guallar Castellón Universidad Autónoma de Madrid	Azucena del Carmen Mora Gutiérrez Universidad de Santiago de Compostela	María Dolores Rodrigo Aliaga Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Houda Berrada Ramdani Universitat de València	Ángel Gil Izquierdo Consejo Superior de Investigaciones Científicas	Gema Nieto Martínez Universidad de Murcia	María de Cortes Sánchez Mata Universidad Complutense de Madrid
Irene Bretón Lesmes Hospital Gregorio Marañón de Madrid	Ángel José Gutiérrez Fernández Universidad de La Laguna	Silvia Pichardo Sánchez Universidad de Sevilla	Gloria Sánchez Moragas Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Rosa María Capita González Universidad de León	Isabel Hernando Hernando Universitat Politècnica de València	María del Carmen Recio Iglesias Universitat de València	Antonio Valero Díaz Universidad de Córdoba
Araceli Díaz Perales Universidad Politécnica de Madrid	Baltasar Mayo Pérez Consejo Superior de Investigaciones Científicas	Ana María Rivas Velasco Universidad de Granada	María Roser Vila Casanovas Universitat de Barcelona

Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Gestión técnica del informe AESAN: Paula Arrabal Durán

Resumen

En los últimos años se ha detectado un aumento de la presencia de especies de *Vibrio* en productos derivados de la pesca como consecuencia de fenómenos asociados al cambio climático, comercio internacional y desarrollo de nuevos métodos de detección y diagnóstico. Concretamente, son los serogrupos de *V. cholerae* O1 y O139, así como las cepas portadoras del gen que codifica para la toxina del cólera (cepas *ctx* positivas), las que suponen un riesgo para el consumidor a través de

la ingesta de alimentos de origen pesquero contaminados. La falta de un criterio armonizado sobre los controles en frontera, junto con la creciente presencia de cepas no toxigénicas no-01/no-0139, pone de manifiesto la necesidad de valorar de forma más precisa el riesgo para el consumidor de la presencia de *V. cholerae* en langostinos y otros productos de la pesca congelados, tanto crudos como cocidos listos para el consumo, y establecer unos criterios microbiológicos, en el marco del control de estos productos.

En base a la bibliografía analizada, la prevalencia de *V. cholerae* O1 y O139, así como de cepas *ctx* positivas en langostinos y otros productos de la pesca congelados importados es baja, de manera que el riesgo para el consumidor estaría, principalmente, asociado a prácticas de manipulación y almacenamiento deficientes. Por otro lado, la patogenicidad de los serogrupos de *V. cholerae* no toxigénicos no está aún bien definida, no existiendo evidencias sólidas acerca de la infección por transmisión alimentaria.

Por tanto, en base a las evidencias encontradas, se recomienda mantener el criterio microbiológico de ausencia en 25 g de producto, ya sean langostinos u otros productos de la pesca congelados crudos, o cocidos listos para el consumo, para el caso de *V. cholerae* O1 y O139, así como de otras cepas *ctx* positivas, dado el riesgo inherente asociado a la enfermedad. Para aquellas cepas de *V. cholerae* no toxigénicas, no existen suficientes evidencias acerca de la patogenicidad de las mismas, por lo que no se sugieren medidas de intervención más allá del seguimiento de unas Buenas Prácticas de Higiene (BPH), de aplicación a cualquier producto de la pesca.

En relación con el riesgo asociado a la presencia de *V. cholerae* en langostinos y otros productos de la pesca congelados crudos, se deduce que los tratamientos de cocción a 70 °C durante 2 minutos en el centro del producto garantizan la eliminación del patógeno. En el caso de los langostinos y otros productos de la pesca congelados cocidos listos para el consumo, el riesgo microbiológico se asocia con la contaminación posterior al tratamiento de cocción. Con objeto de mitigar el riesgo para el consumidor, es preciso la aplicación de unas BPH y de los principios del Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) a lo largo de la cadena de producción, distribución y consumo.

Palabras clave

Vibrio cholerae, brote de origen alimentario, criterios microbiológicos, langostinos congelados, productos de la pesca.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the microbiological criteria for *Vibrio cholerae*, as additional control measures at border control posts, applicable to imported frozen prawns and other fishery products

Abstract

In recent years, an increase in the presence of *Vibrio* species in fishery products has been detected as a result of phenomena associated with climate change, international trade and the development

of new detection and diagnosis methods. Specifically, it is the serogroups of *V. cholerae* O1 and O139, as well as the strains carrying the gene that codes for cholera toxin (*ctx* positive strains), that pose a risk to the consumer through the intake of contaminated fishery products. The lack of a harmonised criterion on border controls, together with the increasing presence of non-toxigenic non-O1/non-O139 strains, highlights the need to more accurately assess the risk to the consumer of the presence of *V. cholerae* in frozen prawns and other fishery products, both raw and cooked ready-to-eat, and establish microbiological criteria, within the framework of controlling these products.

Based on the literature analysed, the prevalence of *V. cholerae* O1 and O139, as well as *ctx* positive strains in imported frozen prawns and other fishery products is low, so the risk to the consumer is mainly associated with poor handling and storage practices. On the other hand, the pathogenicity of non-toxigenic *V. cholerae* serogroups is not yet well defined, and there is no solid evidence of foodborne infection.

Therefore, based on the evidence found, it is recommended to maintain the microbiological criterion of absence in 25 g of product, whether frozen, raw or cooked ready-to-eat prawns or other fishery products, in the case of *V. cholerae* O1 and O139, as well as other *ctx* positive strains, given the inherent risk associated with disease. For those strains of non-toxigenic *V. cholerae*, there is not enough evidence about their pathogenicity, so no intervention measures are suggested beyond the monitoring of Good Hygiene Practices (GHP), applicable to any fishery product.

In relation to the risk associated with the presence of *V. cholerae* in raw, frozen prawn and other fishery products, it follows that cooking treatments at 70 °C for 2 minutes in the centre of the product guarantee the elimination of the pathogen. In the case of frozen, cooked ready-to-eat prawns and other fishery products, microbiological risk is associated with contamination after cooking treatment. In order to mitigate the risk to the consumer, it is necessary to apply GHP and the principles of Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) throughout the production, distribution and consumption chain.

Key words

Vibrio cholerae, foodborne outbreak, microbiological criteria, frozen prawns, fishery products.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo) Valero, A., Capita, R.M., Mayo, B., Mora, A.C. y Rodrigo, M.D. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre los criterios microbiológicos para *Vibrio cholerae* aplicables, como medidas adicionales de control en los puestos de control fronterizos, a langostinos y otros productos de la pesca congelados importados. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2024, 39, pp: 11-46.

1. Introducción

El género *Vibrio* está ampliamente distribuido en la naturaleza en ambientes acuosos dulces o salinos, en zonas de litoral y estuarios de regiones tropicales. Lo conforman, al menos, 12 especies patógenas para el hombre; 10 de estas podrían causar enfermedades que se transmiten a través de los alimentos. La mayoría son causadas por *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*.

Salvo situaciones particulares, la exposición del consumidor a estos patógenos es muy baja, debido a su baja prevalencia en productos de la pesca, a la inhibición del crecimiento a temperaturas de refrigeración, a la sensibilidad al tratamiento térmico y al consumo limitado de productos de la pesca (pescado, moluscos y crustáceos) crudos en España.

Por todo ello, el riesgo de padecer enfermedad por consumo de productos de la pesca procedentes de terceros países contaminados por *Vibrio* spp. en España se ha calificado hasta ahora, en términos generales, de bajo o muy bajo, en función de los datos disponibles de identificación, prevalencia y concentración, tanto de *V. cholerae* como de *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*. Sin embargo, diversos estudios apuntan a que el cambio climático y el aumento de la temperatura del mar están contribuyendo a un incremento de la prevalencia y la concentración de *Vibrio* en aguas, asociada a un aumento de brotes notificados a nivel mundial y a su propagación geográfica a regiones en las que antes no existía la enfermedad. Adicionalmente, factores como el incremento de densidad de población en la costa y la mejora de los métodos diagnósticos podrían ser una explicación de estas observaciones.

Una temperatura de conservación inadecuada puede producir un aumento considerable en los recuentos de *Vibrio*, pudiendo alcanzar niveles de riesgo para la salud, aun partiendo de concentraciones del patógeno muy bajas en la captura del producto o a su llegada a los puestos de control fronterizos. La contaminación cruzada durante la manipulación, así como a través del contacto con alimentos contaminados, puede incrementar el riesgo asociado a la presencia de *Vibrio* spp.

El Reglamento (CE) Nº 2073/2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (UE, 2005), no establece criterios a nivel de la Unión Europea para ninguna especie de *Vibrio*, por lo que no hay un criterio armonizado sobre los controles en frontera, y cada país adopta una decisión propia sobre sus actuaciones en el control de estos patógenos.

Según el informe de la reunión del *Joint FAO/WHO Expert Meetings on Microbiological Risk Assessment* (JEMRA, 2021), están ya disponibles diversos enfoques para el aislamiento, la detección, la enumeración y la caracterización de *Vibrio* spp. a partir de matrices como el agua y los mariscos. En particular, el método internacional para la detección de *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* y *V. vulnificus* (UNE-EN ISO 21872-1:2017 (UNE-EN ISO, 2017)) incluye opciones de detección molecular mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional y en tiempo real (qPCR).

Vibrio spp., principalmente las especies *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*, han sido identificadas por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) como peligros biológicos con alta probabilidad de convertirse en emergentes en un futuro próximo en Europa. La EFSA está preparando una opinión sobre *Vibrio* spp. asociado al consumo de alimentos de origen marino, cuya publicación está prevista para junio de 2024 (EFSA, 2022). Asimismo, el Comité del *Codex Alimentarius* sobre Higiene de los Alimentos (CCFH), está revisando el documento de 2010, Directrices sobre la

aplicación de los principios generales de higiene de los alimentos para el control de las especies patógenas de *Vibrio* en los alimentos de origen marino (Codex Alimentarius, 2010), siguiendo la evidencia científica más actual recogida por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS).

Como consecuencia del resultado desfavorable de controles de *V. cholerae* en crustáceos congelados procedentes de terceros países en puestos de control fronterizos durante los años 2022 y 2023, se intensificaron los controles oficiales en toda la Unión Europea para langostinos congelados procedentes de algunos establecimientos proveedores. En estos controles, el criterio establecido era el de ausencia de *V. cholerae*, sin distinción de serogrupos.

Con estas premisas, se solicita al Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) que elabore un informe en el que se determine:

- i. Las diferencias que existen en cuanto al riesgo para el consumidor entre la presencia en langostinos congelados de las cepas de *V. cholerae* pertenecientes a los serogrupos O1 u O139; los serogrupos no-O1/no-O139 portadores del gen *ctx* que codifica la toxina del cólera (CTX); los serogrupos no-O1/no-O139 no portadores del gen *ctx* que codifica la CTX.
- ii. Las diferencias que existen en cuanto al riesgo para el consumidor de la presencia de *V. cholerae* en langostinos congelados, entre los productos crudos, y aquellos cocidos listos para el consumo.

2. Antecedentes

2.1 Aspectos taxonómicos

El género *Vibrio* pertenece a la familia *Vibrionaceae* y está constituido por bacterias halófilas Gram negativas con forma de bastón curvo y muy móviles, con un solo flagelo polar. El microorganismo mide entre 1 y 3 μm de largo y entre 0,5 y 0,8 μm de ancho, es anaerobio facultativo, oxidasa positivo, no forma esporas y es capaz de fermentar azúcares (glucosa, sucrosa y manitol) (Kraus et al., 2003) (Ryan y Ray, 2004). Las especies de *Vibrio* se encuentran típicamente en ambientes acuáticos y algunas representan un grave peligro para la salud humana como agentes causantes de infecciones transmitidas por alimentos (Haque et al., 2023). *Vibrio* spp. puede provocar cólera, vómitos, septicemia, diarrea con sangre, dolor abdominal, fiebre y náuseas, procesos que en muchas ocasiones están asociados con el consumo de alimentos de origen marino contaminados (Haque et al., 2023). 12 de las 30 especies del género se consideran patógenos humanos; entre estas, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* son las notificadas con mayor frecuencia (Haque et al., 2023).

V. cholerae se divide en más de 200 serogrupos determinados por la estructura del antígeno O del lipopolisacárido (LPS). Entre ellos, un subconjunto de cepas pertenecientes a los serogrupos O1 y O139 pueden causar cólera debido a su capacidad para producir la CTX, responsable de diarrea acuosa profusa, y se han asociado principalmente con epidemias. La CTX presenta dos subunidades, A y B, esta última con cinco componentes. Las cepas de *V. cholerae* que causan el cólera albergan un bacteriófago filamentoso (CTX Φ) que codifica la CTX, y un factor de virulencia, el *pilus* corregulado por la toxina (TCP, *Toxin-Coregulated Pilus*), un *pilus* de tipo IV que es esencial para la colonización (permite a las células bacterianas adyacentes unirse entre sí, facilitando la formación

de microcolonias dentro del intestino de los seres humanos y animales infectados, y facilita la adhesión a los enterocitos) y también sirve como receptor del bacteriófago CTX Φ (Waldor y Mekalanos, 1996). Además del TCP, muchas otras estructuras y actividades celulares, incluido el antígeno O-LPS, la curvatura celular, la motilidad y determinados procesos metabólicos, han sido implicados en la colonización intestinal por *V. cholerae* (Baker-Austin et al., 2018). La producción de estos factores de virulencia (CTX y TCP) está fuertemente influenciada por las condiciones ambientales (Bhandari et al., 2023). Otros factores de virulencia, como la toxina de la zonula occludens (Zot), la enterotoxina accesoria del cólera (Ace), la hemolisina (HlyA), la enterotoxina termoestable, los sistemas de secreción tipo III y VI (T3SS y T6SS) y la capacidad para formar biopelículas están involucrados en la patogenicidad de *V. cholerae*. Por lo tanto, incluso los aislamientos de *V. cholerae* negativos para los genes de la CTX podrían suponer un motivo de preocupación ante la potencial presencia de otros genes de virulencia (Jantapaso et al., 2024), si bien este es un aspecto que ha sido objeto de pocas investigaciones hasta el momento.

La gran mayoría de los casos de cólera son causados por cepas del serogrupo O1, que se dividen en tres serotipos, denominados Ogawa, Inaba y Hikojima, según el estado de metilación de la perosmina terminal del LPS. Las cepas de Ogawa están metiladas, las cepas de Inaba no están metiladas y las cepas de Hikojima expresan antígenos O metilados y no metilados. Si bien los serotipos Ogawa e Inaba pueden circular simultáneamente durante las epidemias y son capaces de interconvertirse (Stroehrer et al., 1992), el serotipo Hikojima es raro y la evidencia indica que es una forma de transición inestable que se produce cuando una cepa presenta un cambio de serotipo de Ogawa a Inaba (Karls-son et al., 2014). A su vez, el serogrupo *V. cholerae* O1 se clasifica en dos biotipos, clásico y El Tor, que se pueden distinguir en base a un conjunto de marcadores fenotípicos y genéticos (Barzelighi et al., 2016) (Clemens et al., 2017). Así, en principio, estos dos biotipos difieren en su capacidad hemolítica, reacción de aglutinación con eritrocitos y resistencia a la polimixina B, características presentes en las cepas El Tor (Sharma et al., 1997) (Sharifnia et al., 2012). Un gen que ayuda a codificar el desarrollo y la regulación del TCP, *tcpA*, también se utiliza para distinguir biotipos (El Tor o clásico), en base a deleciones de secuencia en el alelo clásico (Iredell y Manning, 1994). Curiosamente, existen algunas diferencias entre ambos biotipos por lo que respecta a los patrones de infección. Las cepas de El Tor son más eficientes en la transmisión de hospedador a hospedador, sobreviven mejor en el medio ambiente y en el intestino humano, y tienen una mayor incidencia de portadores asintomáticos que sintomáticos, en comparación con las cepas clásicas (Nair et al., 2006).

En general, las cepas que no pertenecen a estos serogrupos (comúnmente denominadas "*V. cholerae* no-O1/no-O139") carecen del gen *ctx* y no son patógenas, o causan enfermedades leves y esporádicas en personas sanas, como gastroenteritis, otitis o infecciones de heridas (Farina et al., 2010). En personas inmunocomprometidas o que tienen una enfermedad subyacente, las cepas de *V. cholerae* no-O1/no-O139 son capaces de provocar fascitis necrotizante y septicemias, con tasas de letalidad asociadas de hasta el 47 % (Trubiano et al., 2014), así como gastroenteritis potencialmente tan severa como el cólera (Calduch et al., 2003) (Dutta et al., 2013) (Octavia et al., 2013) (Fernández-Ruiz et al., 2017) (Zhang et al., 2020). Las infecciones producidas por cepas no-O1/no-O139 están a menudo relacionadas con una exposición ambiental, particularmente con el consumo de

alimentos de origen marino crudos o poco cocinados, y afectan, principalmente, a pacientes inmunodeprimidos (Morris, 1990) (Patel et al., 2009). Durante el verano de 2014, hubo un aumento notable del número de infecciones por *V. cholerae* no-01/no-0139 notificadas en la zona del Mar Báltico, lo que se correspondió tanto temporal como espacialmente con una importante ola de calor. La mayoría de los casos consistieron en infecciones autolimitadas de oído y tejidos blandos asociadas con la natación o la exposición al agua (Baker-Austin et al., 2018).

Aunque la importancia clínica y el impacto para la salud pública de los serogrupos no toxigénicos de *V. cholerae* han sido cuestionados durante mucho tiempo, su implicación en brotes de diarrea tras el consumo de mariscos contaminados se ha documentado en varios países europeos (Le Roux et al., 2015). Algunas cepas de *V. cholerae* no-01/no-0139 producen una enterotoxina termoestable (denominada NAG-ST), que se parece mucho a la enterotoxina termoestable de *Escherichia coli* enterotoxigénica. Estas cepas, denominadas "*V. cholerae* enterotoxigénica", pueden causar enfermedades diarreicas en humanos, según observaciones en voluntarios y estudios epidemiológicos de brotes y casos esporádicos (Bagchi et al., 1993). La patogenicidad de *V. cholerae* no toxigénico puede verse aumentada debido a la presencia de un amplio espectro de factores de virulencia, incluidas enzimas extracelulares, enterotoxinas y hemolisinas (Restrepo et al., 2006) (Ottaviani et al., 2009). Por ello, es posible que los serogrupos no toxigénicos de *V. cholerae* pasen a ser considerados en el futuro como una causa emergente de infección gastrointestinal en nuestro medio, especialmente en pacientes inmunodeprimidos, donde la infección podría estar asociada a una mortalidad significativa (Fernández-Ruiz et al., 2017).

En ocasiones, se han aislado cepas no-01/no-0139 que producen la CTX (O141 y O75 en los Estados Unidos; O5, O6, O10, O12, O14 y O37 en otras partes del mundo) (Crump et al., 2003) (Tobbin-D'Angelo et al., 2008) (Aidanian et al., 2015). Estos serogrupos pueden provocar casos esporádicos de enfermedad colérica o pequeños brotes, pero no parecen ser capaces de causar cólera epidémico. En este sentido, se ha indicado que algunos serogrupos no-01/no-0139 podrían servir también como reservorio del genoma del fago de la toxina del cólera (Udden et al., 2008). En los estudios filogenéticos estos serogrupos no-01/no-0139 no se agrupan con las cepas de *V. cholerae* responsables de enfermedades epidémicas (que tienden a colocarse muy próximas) y, en general, carecen de múltiples genes/complejos de genes que se han asociado con el cólera "típico" (Li et al., 2002). Este hecho coincide con el concepto de que existe un "genotipo epidémico" que incluye múltiples genes necesarios para la enfermedad epidémica (Aidanian et al., 2015). Concretamente en Europa se carece de sistemas de notificación obligatorios para enfermedades asociadas a *Vibrio* distintas de las causadas por *V. cholerae* O1/O139, lo que impide una estimación precisa del número de infecciones. No obstante, la prevalencia de brotes causados por *V. cholerae* no-01/no-0139 está aumentando, probablemente como consecuencia del incremento progresivo de la temperatura de la superficie marina (Castello et al., 2022).

2.2 Cólera

La infección por *V. cholerae* puede ser asintomática o cursar con formas clínicas severas (cólera *gravis*). El cólera puede presentarse como una enfermedad esporádica, epidémica o endémica,

conocida por causar diarrea grave y deshidratación que puede provocar la muerte en ausencia de tratamiento médico (Bhandari et al., 2021). En las zonas endémicas, el 75 % de los casos son asintomáticos, el 20 % son leves a moderados y entre el 2 % y el 5 % son formas graves. Los síntomas incluyen la aparición abrupta de diarrea acuosa en “grano de arroz”, vómitos ocasionales y calambres abdominales (Ryan y Ray, 2004). La deshidratación sobreviene con síntomas y signos como sed, mucosas secas, disminución de la turgencia de la piel, ojos hundidos, hipotensión, pulso radial débil o ausente, taquicardia, taquipnea, voz ronca, oliguria, calambres, insuficiencia renal, convulsiones, somnolencia, coma y, ocasionalmente, muerte (Kraus et al., 2003). La muerte por deshidratación puede ocurrir en unas horas o días, especialmente en niños sin tratamiento médico, siendo la enfermedad especialmente peligrosa para las mujeres embarazadas durante la última etapa del embarazo, ya que pueden ocurrir abortos, partos prematuros y muerte fetal. En los casos de cólera *gravis*, que implican una deshidratación severa, hasta el 60 % de los afectados pueden morir; sin embargo, menos del 1 % de las infecciones son mortales con tratamiento de rehidratación. El período de incubación del cólera puede oscilar entre 12 horas y 5 días, y la enfermedad suele durar entre 4 y 6 días (Azman et al., 2013). Varios estudios demuestran que la infección clínicamente aparente por *V. cholerae* induce inmunidad protectora contra infecciones posteriores en humanos. Los pacientes sintomáticos pueden eliminar vibrios antes de los signos clínicos de la enfermedad y hasta 2 semanas después. Además, puede existir un estado de portador (donde el paciente tiene el agente infeccioso sin ninguna manifestación clínica), eliminándose en este caso los vibrios en cantidades pequeñas e intermitentes durante varias semanas (Gangarosa et al., 1966).

V. cholerae se transmite de persona a persona por vía fecal-oral o indirectamente a través de alimentos o agua contaminados (Montero et al., 2023), habiéndose notificado epidemias causadas por el consumo de alimentos de origen marino (Krauss et al., 2003) (Ryan y Ray, 2004) (Baker-Austin et al., 2018). En los países desarrollados, los casos de gastroenteritis por *Vibrio* están casi siempre relacionados con el consumo de alimentos de origen marino, particularmente crudos o poco cocinados (Hlady y Klontz, 1996). Sin embargo, en entornos con recursos limitados, el patrón suele ser menos claro, debido en parte al mayor riesgo de contaminación fecal de los alimentos y el agua y/o a la contaminación cruzada de otros alimentos con productos de la pesca contaminados. La temperatura y la salinidad son los dos factores más importantes que afectan a la distribución de *Vibrio* en todo el mundo. Por ello, las infecciones generalmente surgen durante el verano y el otoño, cuando las aguas superficiales son comparativamente más cálidas (Deeb et al., 2018). El rápido calentamiento del medio marino, junto con el aumento de fenómenos meteorológicos extremos, como las olas de calor, están favoreciendo la propagación de *Vibrio* spp. en todo el mundo, y recientemente se han notificado brotes de infección por *Vibrio* spp. en regiones templadas como España (*V. parahaemolyticus* (Martínez-Urtaza et al., 2018)), Suecia y Finlandia (*V. cholerae* y otras especies (Baker-Austin et al., 2016)).

Después de la ingestión, el patógeno prolifera hasta alcanzar una alta concentración a lo largo de la superficie mucosa del intestino delgado, pero no altera la integridad de la barrera epitelial ni causa daños sustanciales a las células epiteliales (se trata de un patógeno extracelular). En cambio, las bacterias provocan una intensa respuesta secretora, lo que resulta en una diarrea acuosa

profusa. Estudios en diversos modelos animales y en voluntarios han demostrado que la diarrea colérica es, principalmente, una respuesta a la CTX secretada por el patógeno. Así, se ha observado que la eliminación de los genes *ctxA* y *ctxB* (que codifican las subunidades A y B de la CTX, respectivamente) de *V. cholerae* anula la capacidad de la bacteria para inducir diarrea en modelos animales, mientras que la administración de CTX purificada es suficiente para provocar diarrea en voluntarios humanos (Baker-Austin et al., 2018).

Gracias a los avances en materia de saneamiento a través de la educación y la mejora de la infraestructura (gestión adecuada de las aguas residuales), los países desarrollados han erradicado con éxito el cólera, excepto algunos brotes ocasionales o como resultado de unos pocos casos importados (OMS, 2018). Por el contrario, el cólera es endémico en casi 70 países en el ámbito mundial, siendo más frecuente la enfermedad en áreas tropicales y subtropicales. La mayoría de los casos se encuentran en el subcontinente indio y en África (en 2002, la OMS estimó que el 97 % de los casos de cólera ocurren en África) (Ali et al., 2015), donde cuestiones socioeconómicas como el crecimiento demográfico y el consecuente hacinamiento, la urbanización no planificada y la mala infraestructura sanitaria, la pobreza extrema, la migración forzada y los conflictos bélicos prolongados contribuyen a la transmisión de la enfermedad (OMS, 2018). En zonas endémicas, los casos de cólera tienden a ser más comunes en niños menores de 5 años, que puede ser explicado por un deficiente sistema inmunitario. Además de los patrones endémicos de transmisión, el cólera a menudo ocurre en el contexto de grandes y devastadoras epidemias. Las epidemias en zonas endémicas tienden a ocurrir durante la temporada de calor y parecen estar aumentando como consecuencia del cambio climático (Kraus et al., 2003). En el año 2022, se registraron cerca de medio millón de casos de cólera en el mundo, y 2549 defunciones por esta causa (OMS, 2023). Sin embargo, algunos investigadores estiman que se producen anualmente 3 millones de casos de enfermedad humana, asociados a más de 100 000 fallecimientos (Ali et al., 2012).

En los últimos 200 años ha habido siete pandemias principales de cólera. El biotipo clásico de *V. cholerae* O1 fue responsable de las seis primeras pandemias de cólera, que discurrieron entre los años 1817 y 1925. A partir de ese año, dejando a un lado algunos brotes locales, no se notificaron más pandemias de cólera hasta la década de 1960 (Wachsmuth et al., 1994) (Dziejman et al., 2002). La séptima pandemia de cólera, causada por el biotipo El Tor, comenzó en Sulawesi (Indonesia), llegó a África en 1970 y a América Latina en 1991 (Rivera et al., 2003). En agosto de 2000, Sudáfrica experimentó una de las peores epidemias de cólera en su historia, con más de 114 000 casos registrados.

Las cepas de la séptima pandemia O1 El Tor, que continúa en la actualidad, han sido las más persistentes probablemente como consecuencia de su continua adaptabilidad a los cambios ambientales y de otro tipo (presión de selección, eventos evolutivos, transferencia de genes, etc.). Estas cepas de El Tor reemplazaron a las cepas clásicas poco después de su aparición en 1961, excepto en Bangladesh, donde ambas cepas se notificaron simultáneamente durante una década (1982-1993) (Ansaruzzaman et al., 2007). Hasta principios de la década de 2000, todavía se produjeron en todo el mundo algunos casos esporádicos por el biotipo clásico. Desde 1990, *V. cholerae* O1 ha cambiado a cepas variantes de El Tor híbridas y alteradas. Estas cepas variantes de El Tor tienen

fenotipos únicos o mixtos en comparación con las cepas clásicas y El Tor, y al mismo tiempo producen la CTX de tipo clásico. Estas variantes emergentes de *V. cholerae* se han clasificado como cepas de “variante atípica de El Tor” (Safa et al., 2010) (Klinzing et al., 2015).

El Tor fue reemplazado temporalmente, en 1992, por una cepa de un serogrupo distinto del O1, que provocó un brote masivo de una enfermedad similar al cólera en aldeas costeras de la India y Bangladesh. Esta cepa es fenotípica y genéticamente muy cercana a El Tor, con algunas características de las cepas clásicas, y está clasificada como un nuevo serogrupo (O139 Bengala). En agosto de 1996, *V. cholerae* resurgió como agente causante del cólera en Calcuta, denominándose la cepa responsable O139 Calcuta. Estas cepas O139 Calcuta son genéticamente similares a O139 Bengala y tienen un elemento *ctx* adicional del tipo El Tor (Sharma et al., 1997). Se pensaba que la rápida propagación de esta cepa del serogrupo O139 Bengala en la mayor parte de Asia anunciaba el comienzo de la octava pandemia, pero esta cepa no se propagó fuera de Asia y, en consecuencia, no se clasificó como pandemia. El cólera asociado a la cepa O139 Bengala disminuyó en 1996, pero aumentó en 2002 y, nuevamente, en 2005. Desde entonces, O139 Bengala no está asociado con ningún brote importante y solo se aísla de forma esporádica. Actualmente, coexisten brotes de cólera por cepas de los biotipos O139, O1 El Tor y O1 El Tor híbrido/atípico (Bhandari et al., 2023). El biotipo El Tor continúa siendo el principal agente causante del cólera en todo el mundo (Baker-Austin et al., 2018).

Son destacables los cambios poblacionales (reemplazo casi completo de las cepas prevalentes por nuevas cepas) y la evolución continua de *V. cholerae* O1 desde el siglo XVIII al siglo XXI. La transferencia horizontal de genes y la adquisición de ADN exógeno, incluidos elementos genéticos móviles como plásmidos, bacteriófagos, transposones, elementos integrativos y conjugativos e islas genómicas, ayudan a las bacterias a aumentar su aptitud en diferentes condiciones ambientales. La aparición de nuevos clones patógenos como, por ejemplo, *V. cholerae* O1 El Tor, *V. cholerae* O139 y clones atípicos de *V. cholerae* O1 El Tor parece deberse a la extensa recombinación genética producida mediante transferencia horizontal de genes, principalmente islas genómicas (Bhandari et al., 2021). De hecho, el análisis del genoma de *V. cholerae* sugiere que los recientes brotes de cólera en varias partes del mundo se han producido por la rápida evolución de múltiples descendientes de un ancestro de *V. cholerae* O1 El Tor, debido, principalmente, a eventos de transferencia horizontal de genes mediante transducción, conjugación y transformación (Chun et al., 2009).

2.3 El cólera y los alimentos. Prevalencia de *V. cholerae* en productos de la pesca

Entre los diferentes alimentos, los productos de la pesca son la principal fuente de infección por *V. cholerae* en el mundo. Así, esta bacteria es uno de los patógenos más importantes asociados con su consumo en varios países (Yaashikaa et al., 2016) (Castello et al., 2022). La contaminación de estos alimentos con *Vibrio* spp. se puede producir en varios puntos de la cadena de producción, incluyendo el ciclo vital de los mariscos, así como su procesado, conservación y almacenamiento (por ejemplo, a partir del plancton, agua de estanque, agua utilizada para limpieza, hielo y por contaminación cruzada con diferentes superficies) (Jantapaso et al., 2024), especialmente cuando estas operaciones se realizan bajo condiciones higiénicas inadecuadas. En consecuencia, los productos

de la pesca pueden estar contaminados con diferentes especies de *Vibrio* que no solo contribuyen a su deterioro, sino también a la propagación del cólera y otras enfermedades transmitidas por los alimentos (Haque et al., 2023).

Las características fisicoquímicas de los alimentos que favorecen la supervivencia y el crecimiento de *V. cholerae* incluyen alto contenido en agua, pH neutro o alcalino y ausencia de bacterias competidoras. Además, *V. cholerae* tiene la capacidad de formar biopelículas, que pueden jugar un papel importante en la persistencia y transmisión del patógeno (Fernández-Delgado et al., 2016). Así, al igual que ocurre con muchos otros microorganismos, se ha documentado la resistencia de las biopelículas de *V. cholerae* al cloro y a otros desinfectantes (Carrascosa et al., 2021), lo que dificulta el control de esta bacteria en la industria alimentaria.

Los seres humanos son un reservorio de *V. cholerae*, al igual que los animales que se encuentran en entornos acuáticos (Krauss et al., 2003). El cambio climático, la creciente contaminación del agua y la antropización de las costas, son factores que favorecen la propagación global de *Vibrio* spp., así como la aparición de aislamientos resistentes a los antibióticos (Castello et al., 2022). Dado que *Vibrio* spp. requiere un ambiente acuático salino templado para un óptimo crecimiento (>15 °C), se ha sugerido que el aumento de las temperaturas medias del mar como resultado del calentamiento global podrían explicar el incremento de la incidencia de infección por *V. cholerae*, incluso en latitudes septentrionales (Ottaviani et al., 2009) (Le Roux et al., 2015).

La presencia de *Vibrio* spp. en alimentos de origen marino ha sido descrita en diferentes países de Asia, Europa y América Latina (Ripabelli et al., 1999) (Lhafi y Kuhne, 2007) (Raghunath et al., 2008) (Lopatek et al., 2015) (Sperling et al., 2015) (Tra et al., 2016) (Neetoo et al., 2022) si bien, en la mayoría de las investigaciones no se detectan cepas productoras de CTX (Zhang et al., 2014). En Tailandia, algunos autores han observado prevalencias muy elevadas de *Vibrio* spp., como es el caso de Woodring et al. (2012), que encontraron el microorganismo en el 92 % de las muestras de alimentos de origen marino crudos procedentes de mercados en Bangkok analizadas en 2008. Por su parte, Preeprem et al. (2014) encontraron que 55 de 125 muestras de alimentos de origen marino analizadas en Tailandia estaban contaminadas con *V. cholerae*, siendo 99 de los 100 aislamientos identificados como no-01/no-0139. Estos investigadores no detectaron cepas productoras de CTX. Preeprem et al. (2023) aislaron recientemente *Vibrio* spp. a partir de alimentos de origen marino procedentes de establecimientos de venta al público en la provincia de Yala (Tailandia), y encontraron que el 34 % de los aislamientos se correspondían con *V. cholerae*. También en ese país, Dalsgaard et al. (1995a) detectaron la presencia de *V. cholerae* O1 en langostinos de acuicultura, pero posteriores estudios moleculares (Dalsgaard et al., 1995b) mostraron que las cepas eran negativas para el gen *ctx*, por lo que estos autores sugieren la importancia de utilizar técnicas moleculares, como PCR, para caracterizar los aislamientos ambientales de *V. cholerae* y poder así detectar las cepas patógenas de este microorganismo. Chitov et al. (2009) han indicado que el nivel de *V. cholerae* en alimentos de origen marino crudos en Tailandia podría oscilar entre 10^2 y 10^4 UFC/g, y los serogrupos detectados generalmente son no-01/no-0139.

Haque et al. (2023) detectaron *V. cholerae* en el 24,7 % de las muestras de piscifactorías analizadas en Bangladesh, con mayor prevalencia en muestras de langostinos (38 %) que en muestras de

barro (20 %) y agua (16 %). Gopal et al. (2005) estudiaron la presencia de varias especies de *Vibrio* en muestras de agua, sedimentos y langostinos de múltiples ambientes de granjas de la costa este y oeste de la India. Estos investigadores detectaron *V. cholerae* en algunos casos, si bien todos los aislamientos fueron negativos para el gen de la CTX. Por su parte, Elhadi et al. (2004) examinaron 768 muestras de alimentos de origen marino de Malasia que incluían langostinos, calamares, cangrejos, berberechos y mejillones. Se realizaron 97 aislamientos de *V. cholerae*, de los cuales 1 pertenecía al serogrupo O1, y 14 al serogrupo O139. En este estudio, todos los aislamientos de *V. cholerae* resultaron negativos para el gen de la CTX (*ctx*), estudiado mediante PCR.

Por lo que respecta a Europa, Castello et al. (2022) estudiaron, en 603 muestras de alimentos de origen marino en Sicilia (Italia), la presencia de *Vibrio* spp., así como la patogenicidad y la resistencia a los antimicrobianos de las cepas. Se realizaron 165 aislamientos, de los que 12 (7,3 %) se correspondían con *V. cholerae*, todos ellos distintos de los serogrupos O1 y O139, no portando ninguno genes de virulencia. También se han observado prevalencias bajas de *V. cholerae* en alimentos de origen marino de otras regiones de Italia. En particular, un estudio realizado por Passalacqua et al. (2016) puso de manifiesto una prevalencia de *V. cholerae* en almejas (*Ruditapes philippinarum*) del 0 % y del 3 % en Emilia Romagna y en Cerdeña, respectivamente. Por su parte, Normanno et al. (2006) obtuvieron una prevalencia del 0,3 % para *V. cholerae* en los mejillones (*Mytilus galloprovincialis*) vendidos en Puglia. En otro trabajo de investigación se demostró una prevalencia más alta que la indicada por lo que respecta a la presencia de *V. cholerae* no toxigénico en langostinos (17 %) y mejillones (9 %) recolectados en la costa italiana (Ottaviani et al., 2009).

En un estudio reciente se determinó la prevalencia de *Vibrio* spp. en el comercio minorista de alimentos de origen marino en Berlín (Alemania) (Vu et al., 2018). Se investigó la presencia del microorganismo en un total de 160 muestras de alimentos de origen marino crudos procedentes de diferentes establecimientos de venta al público, consistentes en langostinos (n= 80) y moluscos bivalvos (n= 80). Utilizando el método ISO/TS 21872 y una PCR multiplex, la prevalencia general de *Vibrio* spp. en alimentos de origen marino al por menor fue del 55 %, y la prevalencia de *V. cholerae* del 6,3 %. Los aislamientos de *V. cholerae* (n= 27) carecían del gen *ctxA*. Esta prevalencia de *Vibrio* spp. es similar a la observada en otros estudios realizados en Francia (34,7 %) (Robert-Pillot et al., 2014) y México en 2012 y 2013 (44,3 %) (Franco-Monsreal et al., 2015). Según datos reportados en el último informe europeo sobre zoonosis *One Health* en 2022, los Países Bajos realizaron pruebas en 185 muestras individuales y 327 lotes de pescado crudo y crustáceos, como camarones, recogidos en puestos de control fronterizo para verificar la presencia de *Vibrio* spp. Se detectó *V. cholerae* no toxigénico en 11 lotes, y *V. parahaemolyticus* se detectó en 18 muestras individuales y en 1 lote, lo que suma un total de 30 (5,9 %) resultados positivos (EFSA/ECDC, 2023).

Además de en productos de la pesca, se ha detectado *V. cholerae* en otros alimentos. En estos casos, la contaminación ocurre, principalmente, cuando se procesan en ambientes antihigiénicos o por contacto con manipuladores infectados. A pesar de su baja prevalencia, algunos alimentos (arroz, gachas de mijo y verduras contaminadas) se han visto implicados también en brotes epidémicos (Budiman et al., 2022). La carne y los productos lácteos tienen también un cierto potencial de transmitir el cólera (Clemens et al., 2017).

3. Alertas y brotes de toxiinfecciones alimentarias asociadas a *V. cholerae* en productos de la pesca en la Unión Europea y a nivel mundial

En los últimos años se ha producido un aumento significativo del número de brotes y alertas alimentarias por especies patógenas de *Vibrio* debido al consumo de productos de la pesca, por lo que se hace necesaria la implementación de guías y estrategias de gestión efectivas para su control.

Estudios previos apuntaban a que era necesaria la ingesta de un número elevado de células viables para que el patógeno pudiese sobrevivir al pH del tracto gastrointestinal y causar infección en el hospedador. Con el aumento de los serogrupos y cepas patogénicas es posible que las dosis infectivas puedan ser más bajas dependiendo de la virulencia de las mismas y del sistema inmune del hospedador.

Los brotes causados por la enfermedad del cólera afectan, principalmente, a países en vías de desarrollo, y se deben a la ingesta de agua y alimentos contaminados con materia fecal. En diversos países de África, las epidemias causadas por la enfermedad del cólera son recurrentes (McAteer et al., 2018) (Sinyange et al., 2018). Previamente, en 2010, también se notificaron más de 23 casos de cólera en Estados Unidos causados por consumo de pescado importado (Newton et al., 2011). Todos estos brotes han estado asociados a *V. cholerae* perteneciente al serogrupo O1. Las variantes alélicas *ctxB* de *V. cholerae* O1 Ogawa han estado relacionadas con diversos brotes en India (Jain et al., 2011) (Bhusan Pal et al., 2021). En 2018, se notificó un brote de *V. cholerae* O1 (serotipo Ogawa) con 74 casos debido a la ingesta de agua contaminada (EFSA/ECDC, 2019). Finalmente, en los últimos años se han notificado brotes como en Haití, donde en 2023 se reportaron más de 20 000 casos con una tasa de hospitalización del 79 % y una ratio de mortalidad del 3 % (Ocasio et al., 2023).

Por otro lado, las cepas de *V. cholerae* que no pertenecen a los serogrupos O1 y O139 (conocidas como no-O1/no-O139) pueden causar infección produciendo casos esporádicos de diarrea, o bacteriemia, aunque la sintomatología es, generalmente, más leve que la causada por las cepas *ctx* positivas. Sin embargo, se han reportado brotes de gastroenteritis causados por cepas no-O1/no-O139 debido a la adquisición de factores de virulencia (T3SS/T6SS) y genes de resistencia a antibióticos (Arteaga et al., 2020). Otros brotes reportados por especies de *V. cholerae* no-O1/no-O139 ocurrieron en Estados Unidos, en 2011, (*V. cholerae* O75) con 10 casos confirmados relacionados con el consumo de ostras contaminadas (Onifade et al., 2011). Otros casos registrados asociados a especies no toxigénicas de *V. cholerae* ocurrieron entre 2014 y 2018 en Noruega, Finlandia, Polonia, Suecia, Dinamarca y Estonia, y fueron atribuidos a un aumento de temperaturas en ese período. En concreto, se notificaron 100 casos, aunque la mayor parte de los mismos (67 %) no fueron graves (Amato et al., 2022). Sin embargo, en otros países europeos como en Austria, a pesar de haberse notificado casos asociados a *V. cholerae* no toxigénico por contacto con aguas contaminadas, no parece haber una correlación clara entre ello y el calentamiento global (Rehm et al., 2023).

Según los datos presentes en el portal RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*), se han notificado 43 alertas, entre los años 2020-2024, debidas a la presencia de cepas de *V. cholerae* en productos pequeros importados (RASFF, 2024), siendo estas notificadas, principalmente, en España y, en menor medida, en otros países como Dinamarca, Suecia, Noruega o Rumanía. La detección

en producto congelado demuestra que el patógeno puede sobrevivir a este tratamiento y producir toxina si las condiciones ambientales permiten su crecimiento posterior.

No obstante, los brotes asociados a *V. cholerae* en la Unión Europea son altamente esporádicos. De acuerdo con la información reportada en el último informe sobre zoonosis (EFSA/ECDC, 2023), en 2022 se ha notificado un brote en la Unión Europea asociado a una cepa no toxigénica de *V. cholerae*, con 4 casos en total y una persona hospitalizada. La fuente de contaminación se atribuyó a la ingesta de comidas preparadas.

Por último, los casos notificados en Europa, en el periodo 2018-2022 (EFSA/ECDC, 2023) muestran un aumento de los casos reportados en el año 2022 (26), en línea con los notificados en los años 2018 y 2019. Asimismo, en 2022, cerca de un 20 % de los mismos necesitaron hospitalización (5) mientras que un 82,6 % se asociaron a casos relacionados con viajes. En relación con la distribución de los casos por grupos etarios, la mayor parte de los mismos tuvieron lugar entre personas de entre 25 y 64 años de edad, con más de un 50 % del total de notificaciones.

4. Criterios microbiológicos aplicados en la Unión Europea para *V. cholerae* en productos de la pesca

A fecha de elaboración del presente informe, la legislación europea carece de criterios microbiológicos armonizados para la monitorización de la contaminación por *Vibrio* spp. en productos de la pesca.

En algunos países, se considera una distinción entre aquellos alimentos cocidos listos para el consumo y los que no lo son, debido, fundamentalmente, al mayor riesgo asociado al consumo de langostinos cocidos en relación con los productos crudos, ya que estos últimos se someten a tratamiento térmico. En algunos casos, se tiene en cuenta la presencia de cepas *ctx* positivas de *V. cholerae* pero, en otros casos, no se tiene en cuenta este criterio. Otros criterios que se aplican están basados en considerar las especies de *Vibrio* más importantes relacionadas con los productos de la pesca crudos y transformados, y no tienen en cuenta los factores de patogenicidad a la hora de realizar las pruebas. Si no se consideran factores de patogenicidad y un lote resulta positivo, aplican el artículo 14 relativo a los requisitos de seguridad alimentaria del Reglamento (CE) N° 178/2002 (UE, 2002). Mediante este reglamento, se faculta a las autoridades competentes para que puedan tomar las medidas adecuadas para imponer restricciones a su comercialización o exigir su retirada del mercado cuando existan indicios de que el alimento no es seguro. Por último, cabe destacar que hay países que no consideran apropiado el rechazo de envíos solo en base al artículo 14 del Reglamento (CE) N° 178/2002 (UE, 2002).

En 2010, el *Codex Alimentarius* publicó unas directrices generales para el control de vibrios patógenos en los alimentos de origen marino (CAC/GL 73-2010) (Codex Alimentarius, 2010). Sin embargo, no proporcionaron unos criterios microbiológicos definitivos, aunque sí indicaba la necesidad de mejorar los enfoques microbiológicos en este apartado. Tal y como se indica en la introducción del presente informe, el Reglamento (CE) N° 2073/2005 (UE, 2005) establece los criterios microbiológicos para los productos alimenticios producidos y comercializados en Europa, pero no incluye criterios microbiológicos específicos para *Vibrio* spp.

En el caso de España, se aplica un criterio de tolerancia cero (ausencia en 25 g) en los puestos de control fronterizos para *V. cholerae* sin distinción entre serogrupos, siguiendo la recomendación de la AESAN en su Informe del Comité Científico sobre los criterios microbiológicos para las especies patógenas del género *Vibrio* aplicables, como medidas adicionales de control en los puntos de inspección fronterizos, a productos pesqueros importados (AESAN, 2010). En el caso de serogrupos no-O1/no-O139, se recomienda identificar los productos que puedan presentar un mayor riesgo para el consumidor y adoptar medidas de vigilancia efectivas sobre los que pudieran ser aislados de muestras ambientales, clínicas o de origen alimentario. Además, en dicho informe se valora la importancia que pueden tener las especies de este género en la contaminación de productos de la pesca y como, a pesar del escaso riesgo que existe en nuestro país, es necesario mantener un control estricto por parte de las autoridades sanitarias.

Por su parte, las directrices italianas relacionadas con los Reglamentos (CE) N° 882/2004 (UE, 2004a) y 854/2004 (UE, 2004b) especifican *V. cholerae* (O1, O139, no-O1/no-O139) y *V. parahaemolyticus* como peligros a controlar en los productos de la pesca durante los controles oficiales. Además, sus directrices mencionan los métodos adecuados para la detección de especies de *Vibrio* potencialmente enteropatógenas (Rahman et al., 2023). Aunque el Reglamento (UE) 2017/625 (UE, 2017) deroga los reglamentos anteriores (Reglamentos (CE) N° 882/2004 (UE, 2004a) y 854/2004 (UE, 2004b)), las directrices siguen siendo válidas en Italia según la nota N° 0069887/2019 (Ministero della Salute, 2019).

De acuerdo con la Opinión N° 011/2022 del *Bundesinstitut für Risikobewertung* (BfR, 2022), y dado que, actualmente, no existe ninguna normativa de la Unión Europea que establezca valores límite microbiológicos para los vibrios en los productos de la pesca, se establece aplicar las siguientes recomendaciones a alimentos, tanto crudos como cocidos listos para el consumo:

- Ausencia de cepas pandémicas de *V. cholerae* O1, O139 con CTX (portadoras del gen *ctx*), y de cepas *ctx* positivas de otros serogrupos.
- Ausencia de *V. vulnificus*.
- Ausencia de cepas de *V. parahaemolyticus* formadoras de toxinas (*tdh+*, *trh+*).

La Instrucción Técnica DGAL/SDSSA/2024-73 del *Ministère de L'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire* francés (MASA, 2024) tiene por objeto definir los criterios para juzgar la conformidad de un lote de productos de la pesca o moluscos bivalvos vivos que se encuentren contaminados con *Vibrio* spp. en los controles oficiales. Esta actualización de la información contenida en la Instrucción Técnica previa DGAL/SDSSA/2023-117 (MASA, 2023), regula, en particular, la posibilidad de realizar tratamientos térmicos para determinados lotes de productos de la pesca contaminados. Entre otros, la Instrucción se aplica en las importaciones, en el caso particular de los controles reforzados (*IOC, contrôles renforcés a l'import*) relativos a la búsqueda de *V. cholerae* en langostinos congelados. Estos controles reforzados están validados por la Comisión Europea y los lotes deben enviarse a la aduana a la espera del resultado del análisis. La Tabla 1 indica las especies de *Vibrio* spp. consideradas patógenas que pueden dar lugar a un resultado no conforme, en el marco de un control oficial, es decir, realizado en el marco de un plan de vigilancia, de control reforzado o tras un brote alimentario.

Tabla 1. Especies de *Vibrio* consideradas patógenas que pueden dar lugar a un resultado no conforme, en el marco de un control oficial

Especies de <i>Vibrio</i> patógenas	Matriz alimentaria	Plan de muestreo	Límite	Método
<i>Vibrio cholerae</i> O1 u O139 <i>Vibrio cholerae</i> no-O1/no-O139 pero portador del gen <i>ctx</i> codificante para la toxina del cólera	Productos de pesca y moluscos bivalvos vivos	n= 5 (*) c= 0	Ausencia en 25 g de carne y líquido intravalvar para moluscos bivalvos ^{a*} o Ausencia en 25 g de carne para los productos de la pesca ^{b*}	Norma NF EN ISO 21872-1 en vigor
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> portador de, al menos, de uno de los genes de hemolisina (<i>tdh+</i> o <i>trh+</i> o <i>tdh+/trh+</i>)				
<i>Vibrio vulnificus</i>				

*En caso de toxiinfección alimentaria colectiva, el análisis se adaptará al número y tamaño de las muestras restantes.

^aUn mínimo de 12 ostras; 30-40 mejillones y conchas; 20-30 almejas.

^bProductos de la pesca para descascarar como crustáceos enteros y pescados enteros.

Fuente: (MASA, 2024).

Para que la muestra cumpla con los requisitos, ninguna de las cinco unidades de muestreo, cada una analizada por separado, debe mostrar la presencia de especies de *Vibrio* patógenas (n= 5 y c= 0).

En el caso particular del refuerzo de los controles de importación, la investigación solo se refiere a *V. cholerae*, donde cualquier detección conduce a declarar “no conforme”, independientemente del serogrupo y de si el gen *ctx* está presente o no.

Hay otras especies de *Vibrio* que se consideran no patógenas. En consecuencia, podrán comercializarse lotes contaminados por *V. alginolyticus*, *V. fluvialis*, *V. mimicus*, *V. carchariae*, *V. metschnikovii*, *V. furnissii*, *V. cincinnatiensis* o por otros vibrios cuyas especies no están identificadas.

La Tabla 2 resume los criterios para juzgar la conformidad de un lote de productos de la pesca o moluscos bivalvos vivos contaminados por *Vibrio* spp. siguiendo controles oficiales, de acuerdo con la Instrucción Técnica DGAL/SDSSA/2024-73 (MASA, 2024).

Tabla 2. Criterios para juzgar la conformidad de un lote de productos de la pesca o moluscos bivalvos vivos contaminados por *Vibrio* spp. en los controles oficiales

Especie de <i>Vibrio</i>		Medidas de gestión
<i>Vibrio cholerae</i> (PSCP o intoxicación posterior)	Pertenece a los serogrupos O1 u O139	Lote no conforme, retirada del mercado Tratamiento térmico posible, con condiciones
	No-O1/no-O139 pero portador del gen <i>ctx</i> que codifica para la toxina del cólera	
	No-O1/no-O139 y no posee el gen <i>ctx</i> que codifica la toxina del cólera	Sin medidas de intervención
<i>Vibrio cholerae</i> (caso particular de control reforzado)	Todos	Lote no conforme, retirada del mercado Tratamiento térmico posible, con condiciones
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Poseer al menos uno de los genes de hemolisina (<i>tdh+</i> o <i>trh+</i> o <i>tdh+/trh+</i>)	Lote no conforme, retirada del mercado Tratamiento térmico posible, con condiciones
	No tener los genes de hemolisina (<i>tdh</i> o <i>trh</i>)	Sin medidas de intervención
<i>Vibrio vulnificus</i>		Lote no conforme, retirada del mercado Tratamiento térmico posible, con condiciones
Otras especies de <i>Vibrio</i>		Sin medidas de intervención

PSCP: Planes de Seguimiento y Planes de Control.

Fuente: (MASA, 2024).

Los lotes no conformes deberán retirarse del mercado, identificarse como subproductos animales no destinados a consumo humano de la categoría 2 lo antes posible y tratarse como tales de conformidad con el artículo 13 del Reglamento (CE) N° 1069/2009 (UE, 2009).

Sin embargo, de conformidad con el Reglamento (CE) N° 2073/2005 (artículo 7, apartado 2) (UE, 2005), se podrá aceptar un tratamiento térmico para destinar los productos a consumo humano, y que tiene como objetivo la destrucción de la bacteria. Para ello, la Instrucción Técnica establece una serie de condiciones:

1. Los productos sean inicialmente crudos, destinados al consumidor final, y no hayan llegado al comercio minorista.
2. El operador justifique un valor mínimo de pasteurización (VP) de 3 en su proceso de cocción/tratamiento térmico.
3. Se actualizará el expediente de intervención de estos lotes que se sabe que están contaminados (detección dentro del marco del control reforzado).

Como parte del control reforzado, la DDPP (*Direction Départementale de la Protection des Populations*) del departamento de destino debe aceptar el procesamiento con antelación, antes de que el puesto de inspección fronterizo entregue el lote al establecimiento de cocina. Luego, la DDPP debe completar el software TRACES.

En buena parte, la falta de normas para *Vibrio* spp. en los alimentos procedentes de la pesca se ha debido, durante mucho tiempo, a la ausencia de métodos discriminatorios adecuados y validados. La base de los procedimientos microbiológicos para la detección de vibrios en alimentos es la norma UNE-EN ISO 21872-1:2017 Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la determinación de *Vibrio* spp. Parte 1: Detección de *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio vulnificus* potencialmente enteropatógenos (UNE-EN ISO, 2017). La Comisión Europea encomendó al Comité Europeo de Normalización (CEN) la tarea de proporcionar datos de validación para 15 métodos microbiológicos que pudiesen apoyar el desarrollo de la legislación comunitaria. Los resultados de esta validación han permitido la integración de las dos especificaciones técnicas existentes destinadas a la detección de las principales *Vibrio* spp. transmitidas por los alimentos, la simplificación del conjunto de pruebas de identificación bioquímica recomendadas y la introducción de procedimientos moleculares que proporcionan tanto la identificación a nivel de especie como la discriminación de cepas patógenas de *V. parahaemolyticus*. Los resultados de estas validaciones se plasmaron en la norma revisada UNE-EN ISO 21872-1:2017, publicada en julio de 2017 (UNE-EN ISO, 2017).

5. Valoración del riesgo asociada a los serogrupos de *V. cholerae* en langostinos congelados crudos y cocidos listos para el consumo

Para poder entender la magnitud del riesgo potencial asociado a la presencia de *V. cholerae* en langostinos congelados crudos y cocidos listos para el consumo, es necesario considerar las tendencias de consumo de estos productos en España. Según los datos aportados en el Informe del Consumo Alimentario en España de 2022 (MAPA, 2023), el consumo per cápita anual de gambas y langostinos ha sido de 1,95 kg, un 12,5 % menos que hace 1 año. Sin embargo, si se tiene en cuenta la distribución por tipo de especie de mariscos a cierre de año 2022, se puede observar que los langostinos/gambas representan más de una cuarta parte del mercado con un 28,3 % del volumen, ganando relevancia con respecto al año anterior, cuando su peso era del 27,9 %. Dentro del consumo de langostinos, en proporción, el consumo de producto congelado asciende a un 58 %, mientras que los langostinos frescos y cocidos suponen una cuota de consumo del 26 % cada uno (Mercasa, 2022).

De acuerdo con las principales fuentes de transmisión, los serogrupos de *V. cholerae* asociados a la enfermedad del cólera proceden de la ingesta de agua o alimentos de origen marino contaminados, principalmente debido a su amplia diseminación en ambientes marinos.

Estudios previos han demostrado que existe una asociación entre los niveles de zooplancton en el agua y la adhesión de *V. cholerae* al exoesqueleto de los crustáceos (Magny et al., 2011). Sin embargo, la prevalencia de especies de *V. cholerae* causantes de enfermedad resulta muy variable, dependiendo de factores ambientales y condiciones de manipulación durante la captura. En países con mayor incidencia de enfermedad del cólera, existen personas asintomáticas portadoras que pueden transmitir el patógeno a los alimentos durante la manipulación.

Con objeto de poder valorar el impacto de la contaminación por *V. cholerae*, así como por otras especies de *Vibrio*, desde hace años se han hecho estudios de Evaluaciones del Riesgo Microbio-

lógico (ERM) asociados a productos derivados de la pesca y aguas. En el caso de la contaminación por especies patógenas de *Vibrio* en agua marina, el riesgo microbiológico asociado es bajo ($<5 \times 10^{-4}$), tal y como se demuestra en algunas ERM realizadas a tal efecto (Dickinson et al., 2013). La infección suele producirse por la entrada del patógeno a través de heridas y contacto con las mucosas.

En relación con la contaminación a través de los alimentos, desde 2001, organizaciones como FAO/OMS han desarrollado ERM destinadas a estimar el riesgo asociado a especies de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. cholerae* en productos de la pesca (FAO/OMS, 2005a, b, 2011, 2016, 2020). Con respecto a *V. cholerae* O1 y O139, destaca la ERM en gambas importadas procedentes de aguas templadas (FAO/OMS, 2005b). En el desarrollo de la ERM se procedió a recopilar información acerca de las condiciones de captura, procesado, preparación y consumo, desarrollándose ERM de tipo cualitativo y cuantitativo. Según los resultados aportados, en líneas generales, el riesgo atribuido a la enfermedad por la ingesta de gambas contaminadas se consideró bajo, con valores entre 0,009 y 0,9 casos/país/año. El riesgo medio se situó entre 2 y 9 casos de enfermedad/10⁹ raciones de producto. Sin embargo, la falta de información impidió distinguir entre productos congelados crudos y cocidos listos para el consumo y, además, no se consideró en aquel entonces el riesgo emergente que supone el incremento de otros serogrupos no-O1/no-O139.

A pesar de que el riesgo atribuible a la presencia de *V. cholerae* O1 y O139 en alimentos contaminados se cataloga como bajo, en los últimos años ha habido un incremento en la detección de especies de *V. cholerae* no-O1/no-O139 en partidas de productos de la pesca contaminadas que han sido objeto de estudio en diversas ERM. López-Hernández et al. (2022) desarrollaron una ERM asociada al consumo de ostión crudo contaminado con *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* en México. Los resultados obtenidos mostraron que el riesgo promedio por consumir ostión crudo sin refrigerar durante 10 horas y contaminado con *V. cholerae* no-O1/no-O139 *ctxA+* se estimó de 99 casos/100 000 porciones en verano, 1,5-6,6 veces mayor al calculado para las otras estaciones. Sin embargo, el riesgo promedio es clasificado como bajo. En contraste, el riesgo en ostiones con 24 horas sin refrigeración durante el verano fue 42,4 veces mayor al calculado con 10 horas sin refrigeración. Oh et al. (2021) desarrollaron una ERM de *V. cholerae* no-O1/no-O139 asociada al consumo de pulpo sin cocinar en Corea de Sur. Según los datos aportados, al igual que el estudio anterior, la probabilidad de contraer enfermedad fue muy baja, con un valor promedio de $7,08 \times 10^{-13}$. Por tanto, a pesar del incremento en la incidencia de serogrupos no-O1/no-O139, en función de la información disponible, el riesgo asociado a la infección por parte de *V. cholerae* debida al consumo de marisco contaminado se cataloga como bajo o muy bajo.

Recientemente, se publicó una revisión de los avances y herramientas de ERM de especies de *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* en productos de la pesca (FAO/OMS, 2021). En este documento, se pone de manifiesto que existe una creciente preocupación por los efectos causados por el cambio climático sobre la diseminación de patógenos alimentarios presentes en ambientes marinos, como las especies de *Vibrio*. A nivel mundial, el calentamiento oceánico ha aumentado significativamente en las áreas adecuadas para la proliferación de especies de *Vibrio* patógenas y causar enfermedades en los seres humanos (Watts et al., 2019). De hecho, existen estudios que apuntan a una corre-

lación entre el incremento de temperatura de las aguas y el riesgo asociado a especies emergentes de *Vibrio* (Baker-Austin, 2013). Además, *Vibrio* spp. presenta un tiempo de duplicación relativamente bajo en comparación con otras especies bacterianas, lo que los hace altamente sensibles a estímulos ambientales favorables, como temperaturas superiores a 15 °C (Baker-Austin et al., 2016) (FAO/OMS, 2021). Por ello, las infecciones causadas por estos patógenos se están reportando ahora en áreas con poca o ninguna incidencia previa, con claras implicaciones para el riesgo futuro.

En relación con las dosis infectivas, existe una gran variabilidad de los datos utilizados las distintas ERM. En cualquier caso, el número de datos asociados a las relaciones dosis-respuesta de *V. cholerae* es limitado. En el caso de que la ingesta suceda a través de agua contaminada, se estima que se necesita una dosis superior para causar enfermedad (10^3 - 10^6 UFC), mientras que cuando se asocia a alimentos contaminados, normalmente las dosis infectivas son inferiores (10^2 - 10^4 UFC) debido al efecto neutralizante del alimento del ácido estomacal (Seas y Gotuzzo, 2010). Otros estudios apuntan a que se requiere la ingesta de una dosis alta (10^8 UFC) para causar cólera grave en voluntarios sanos, mientras que una dosis más baja (10^5 UFC) es suficiente cuando se administra junto con antiácidos para neutralizar el pH del estómago (Sack et al., 2004). Estos valores concuerdan con otros modelos dosis-respuesta desarrollados para *V. cholerae*, en los que se muestra un incremento de la enfermedad a partir de dosis superiores a 10^2 UFC (QMRA Wiki, 2024) con estimaciones de dosis equivalentes (N_{50}) a $6,82 \times 10^3$ UFC, bajo las cuales un 50 % de los individuos contraerían enfermedad, las cuales son similares a las reportadas por Watson et al. (2018). Otros estudios muestran que las dosis pueden ser muy variables en función de la capacidad de producción de ácido en el estómago, situándose entre 10^3 y 10^8 UFC.

En la última década, se han desarrollado una variedad de enfoques de EMR utilizando herramientas de teledetección basadas en satélites para estudiar sistemas marinos, las cuales han sido útiles para la estimación del riesgo para la salud humana asociado a *Vibrio* spp. (Grimes et al., 2014). Estos métodos de aplicación global se han utilizado, principalmente, para analizar cepas de *Vibrio* no-O1/no-O139, procedentes de aguas recreativas y de brotes asociados con el consumo de alimentos de origen marino (Semenza et al., 2017). Estos enfoques se han utilizado con éxito para analizar condiciones ambientales como temperatura y salinidad, que son variables bien establecidas que pueden modular el riesgo de vibriosis. Numerosos estudios, como los que se centran en aguas de baño y las infecciones asociadas con alimentos de origen marino, han demostrado la utilidad de estos métodos para atribuir un mayor riesgo antes y durante los episodios de brotes (Baker-Austin et al., 2016). Asimismo, destaca el desarrollo de la herramienta de gestión *Vibrio Suitability Tool* que predice el riesgo asociado a la presencia de *Vibrio* spp. en aguas procedentes del Mar Báltico de acuerdo con las variables de temperatura y salinidad (ECDC, 2024). El modelo está basado en datos procedentes de cepas de *V. cholerae* no-O1/no-O139 y es capaz de estimar el área geográfica donde se pueden desarrollar condiciones ambientales favorables para la presencia de especies patógenas de *Vibrio*.

Un factor de riesgo clave para las gambas y langostinos cocidos listos para el consumo es la contaminación microbiológica posterior al proceso de cocción. Prácticas deficientes de manejo posterior a la cocción, como el uso de agua de mar o agua potable contaminada para enfriar los camarones y langostinos cocidos, pueden provocar la contaminación por *V. cholerae*. Asimismo,

la contaminación cruzada con productos crudos contaminados, seguida de un abuso de temperatura de almacenamiento puede aumentar el riesgo para el consumidor debido a la presencia de *V. cholerae* (FSANZ, 2005) (ICMSF, 2005). En cuanto a la posibilidad de transmisión del patógeno a través del agua de descongelación, no existen hasta la fecha evidencias constatables al respecto. No obstante, hay que tener en cuenta que debido al efecto de la congelación sobre la reducción de la viabilidad de *V. cholerae* y a los bajos niveles de contaminación presentes en productos de la pesca, la probabilidad de su diseminación a través del agua de descongelación a otros productos se considera muy baja. Debe evitarse la contaminación cruzada entre alimentos. En particular, en la presentación de productos de la pesca sobre hielo en los mostradores de venta en el comercio minorista debe organizarse de tal manera que el hielo y el agua helada no se mezclen ni se reutilicen entre productos separados. En consecuencia, el almacenamiento y presentación de los productos del mar deben organizarse mediante el uso de contenedores separados o disponerse con la suficiente separación física para que no haya contaminación. El uso de agua potable, así como el seguimiento de unas Buenas Prácticas de Higiene (BPH) y los principios del Análisis de Peligros y Puntos de Críticos de Control (APPCC) se antoja fundamental para minimizar el riesgo de contaminación del producto.

6. Mitigación del riesgo asociado a *V. cholerae* en alimentos

Para controlar el cólera, disminuir su incidencia y reducir el número de muertes que causa esta enfermedad es necesario adoptar criterios multidisciplinarios que involucran diversos aspectos como (i) la vigilancia y el conocimiento del patógeno, (ii) el tratamiento y saneamiento de las aguas de bebida y residuales, (iii) el correcto procesamiento, transporte y conservación de los alimentos, (iv) la higiene personal, (v) el adecuado tratamiento de la enfermedad, y (vi) la prevención de la misma mediante vacunas. Algunas de estas medidas se pueden abordar de forma conjunta mediante la aplicación de BPH y de un sistema de APPCC, lo que permitiría identificar, a lo largo de toda la cadena de valor, las prácticas y procesos que presentan mayores riesgos.

En el caso de productos de la pesca, los alimentos con mayor capacidad de transmitir *V. cholerae*, los puntos decisivos para el control incluyen el tratamiento de las aguas de cría, tratamientos de depuración, una adecuada conservación y transporte a baja temperatura (en refrigeración o congelación) de productos crudos y elaborados, y una cuidadosa higiene de los utensilios de trabajo y de los manipuladores (FAO/OMS, 2005b). A este último respecto, algunas estadísticas oficiales muestran que el lavado de las manos con jabón de los operarios reduce el riesgo de enfermedades diarreicas a la mitad (Osei-Asare et al., 2020).

A continuación, se detallan los factores que influyen en la supervivencia, así como las medidas de prevención y control de *V. cholerae* en alimentos.

6.1 Factores que influyen en la supervivencia de *V. cholerae* en alimentos

La temperatura óptima de crecimiento de *V. cholerae* es de 37 °C. Sin embargo, este patógeno puede crecer en el intervalo de 10 y 43 °C. El pH óptimo para el crecimiento es de 7,6, pero puede desarrollarse en el intervalo de 5,0 a 9,6. La actividad de agua (a_w) óptima de *V. cholerae* es de 0,984, aunque puede desarrollarse entre 0,998 y 0,970. Adicionalmente, *V. cholerae* puede crecer con un

rango de cloruro sódico entre 0,1 y 4,0 %, siendo su valor óptimo 0,5 % de cloruro sódico (Singleton et al., 1982) (Huq et al., 1984) (ICMSF, 1996).

6.2 Medidas de prevención y control de *V. cholerae*

6.2.1 Desinfección de agua

La cloración es una medida higiénica fundamental para la eliminación de patógenos del agua. En general, el cloro resulta muy eficaz en la eliminación de *V. cholerae*. Sin embargo, hay pocos datos sobre su acción en diferentes tipos de agua (dulce *versus* salada) o bajo distintos regímenes de dosificación. Por este motivo, se recomienda realizar más investigaciones para establecer dosis de cloro adecuadas y determinar concentraciones que no afecten a propiedades sensoriales como sabor y olor (String et al., 2022). En acuicultura, la cloración se suele realizar en los tanques de cría o engorde de productos de la pesca, pero la medida no se puede implementar en aguas abiertas.

Adicionalmente a la cloración, el desarrollo de nuevas tecnologías que sean tan o más eficaces y al mismo tiempo más respetuosas con la salud y el medio ambiente sigue siendo un desafío científico y técnico. En este sentido, debido a que requiere un tiempo de contacto corto, la radiación ultravioleta (UV) se utiliza cada vez más para la desinfección de aguas. El tratamiento con radiación UV es suficiente para inactivar los vibrios que se liberan al agua durante la depuración (Chen et al., 2018).

6.2.2 Depuración de moluscos

La depuración es un proceso de eliminación de patógenos habitual que se realiza en moluscos antes de su salida al mercado. Consiste en mantenerlos en agua libre de gérmenes para que “purguen” las bacterias patógenas. Los parámetros clave del proceso incluyen el tiempo, la temperatura, la salinidad y la intensidad de la corriente (Campbell et al., 2022). La depuración de *V. cholerae* tiene un efecto limitado cuando se realiza a temperatura ambiente (Eyles and Davey, 1984). A unos 20 °C, la depuración de ostras contaminadas con *V. vulnificus* (especie próxima a *V. cholerae*) requiere de, al menos, 16 días (Kelly and Dinuzzo, 1985). La disminución de la temperatura del agua a 15 °C aumenta la eficacia de la depuración, pero temperaturas inferiores (entre 5 y 10 °C) parecen reducirla (Chae et al., 2009).

6.2.3 Temperatura de almacenamiento

La multiplicación de *V. cholerae* en alimentos está influenciada por la temperatura, y tanto la refrigeración como la congelación retardan su desarrollo y reducen su concentración. La bacteria, sin embargo, puede permanecer viable con ambos tratamientos por un tiempo que depende de la carga microbiana y de las condiciones de almacenamiento, como se ha demostrado en diversos experimentos. En homogenizado de gambas inoculado con una concentración de 7,8 log UFC/g, conservado a 7 °C, se ha observado una supervivencia de *V. cholerae* O1 de hasta 21 días (Reilly y Hackney, 1985). En gambas crudas con un recuento inicial de 5 log UFC/g, se observó una supervivencia de entre 4 y 9 días a 5 y 10 °C, respectivamente (Pesigan et al., 1967). En congelación, se ha comprobado una supervivencia de *V. cholerae* superior a los 3 meses en función de la temperatura (ICMSF, 1996) (Waturangi et al., 2015). En alimentos frescos, incluido pescado de agua dulce, *V.*

cholerae O1 permanece viable hasta 90 días a -5 °C y hasta 30 días a -25 °C. La conservación a temperaturas entre los -12 y -20 °C durante 15 y 60 días redujo la concentración del patógeno en langostino congelado cocido entre 2 y 6 log UFC/g (Nascimento et al., 1998). Las etapas previas de lavado y puesta en hielo del producto pueden reducir de forma adicional la carga de *V. cholerae* en 3 log UFC/g (Sumner, 2011).

6.2.4 Tratamiento térmico

V. cholerae es un microorganismo termolábil, por lo que el tratamiento térmico es una medida eficaz para su inactivación en alimentos. Presenta un valor D (tiempo en minutos para destruir el 90 % de la población) de 2,65 a 60 °C (ICMSF, 1996). Un tratamiento de 1-2 minutos a 80 °C, redujo los recuentos en algo más de 7 ciclos logarítmicos en gambas peladas (Nascimento et al., 1998). Torres-Vitela et al. (2000) concluyeron que un tratamiento de ebullición durante 3 minutos era capaz de reducir en 8 log UFC/g la carga de *V. cholerae* O1 sin modificar de manera significativa el color, olor y aroma de ceviche preparado con pescado tratado. La reducción del patógeno es importante incluso con tratamientos a menor temperatura. Así, el calentamiento de arroz, pescado y carne durante 20 minutos a temperaturas entre 50 y 60 °C (pasteurización fría) parece ser suficiente para eliminar *V. cholerae* O1 (Nascimento et al., 1998). Las agencias de seguridad alimentaria consideran que alcanzar una temperatura de 70 °C durante 2 minutos en el interior de productos del mar es suficiente para la inactivación de *Vibrio* spp. (Wright and Schneider, 2010) (BfR, 2022).

6.2.5 Aditivos

El metabisulfito de sodio (E 223) está autorizado como aditivo alimentario en moluscos y crustáceos de acuerdo al Reglamento (CE) Nº 1333/2008 (UE, 2008). Según Januário y Dicks (2008), la adición de metabisulfito (al 1 %) podría reducir el crecimiento de *V. cholerae* en condiciones comerciales de refrigeración.

6.2.6 Altas presiones hidrostáticas

Las Altas Presiones Hidrostáticas (APH) son una tecnología no térmica de procesamiento de alimentos capaz de inactivar patógenos y reducir la carga microbiana. El tratamiento de productos de la pesca con APH reduce los riesgos microbiológicos, aumenta la vida útil y tiene pocos efectos nocivos sobre la calidad sensorial. *Vibrio* spp. es sensible al tratamiento con APH. La efectividad de dicho tratamiento aumenta combinado con temperaturas moderadas, tanto de calentamiento (Ye et al., 2012) como de enfriamiento. El tratamiento de cepas de varias especies y serogrupos de *Vibrio* a 250-300 MPa durante 10 minutos a 25 °C redujo la concentración de las cepas ensayadas por debajo del límite de detección (Berlin et al., 1999). Por su parte, un tratamiento de 150 MPa durante 4 minutos combinado con temperaturas de congelación (-2 °C), fue capaz de reducir en 4,7 log UFC/g la carga microbiana de *Vibrio* en ostras frescas (Kural y Chen, 2008). La combinación de tratamientos suaves de APH (250-300 MPa durante 2 minutos a 21 °C) seguida de un almacenamiento en refrigeración (en hielo, durante 5-10 días) o congelado (-18 °C, durante 7 días), resultó ser suficiente para la inactivación completa (reducción >7 log UFC/g) de *V. parahaemolyticus* (Ye et al., 2013).

6.3 Vacunas

Las vacunas son herramientas útiles y eficaces para prevenir las infecciones microbianas. En los países en los que *V. cholerae* es endémico y hay grandes posibilidades de contraer la enfermedad, la vacunación masiva supone una buena forma para controlar el cólera. La infección por *V. cholerae*, además, confiere una fuerte inmunidad, lo que subraya la viabilidad de la vacunación preventiva (Mathebula et al., 2023). Autorizadas por la OMS, en la actualidad se dispone de tres marcas comerciales diferentes de vacuna anticolérica oral (OMS, 2017). Las tres requieren de dos dosis para lograr una protección plena.

6.4 Métodos no autorizados

En una fase inicial de desarrollo y sin autorización para su empleo en alimentos, podemos mencionar tratamientos experimentales como la utilización de bacteriófagos contra *V. cholerae* o de bacterias depredadoras del género *Bdellovibrio*. Los virus bacterianos son las entidades biológicas más abundantes en el planeta y los enemigos naturales de las bacterias. La administración de cócteles de fagos activos contra *V. cholerae* podría utilizarse en los tanques o estanques de cría de productos de la pesca (Mittal et al., 2023). Las especies de *Bdellovibrio*, por su parte, pudieran utilizarse para la eliminación de *V. cholerae* del agua (Cao et al., 2015).

En la desinfección del agua, se investiga también en la fotocatalisis. Esta tecnología se basa en la interacción de nanopartículas semiconductoras ligeras y sólidas con luz UV, lo que genera especies de oxígeno reactivas (Wennberg et al., 2013). Los catalizadores de TiO₂ y ZnO son económicos, estructuralmente estables y no son tóxicos (Das et al., 2015). Por su simplicidad y rentabilidad, está centrando también la atención la fotocatalisis asistida por luz solar (Chatterjee et al., 2021).

La FDA (*Food and Drug Administration*) aprobó, en el año 2005, la utilización de los rayos gamma y X para reducir la contaminación en mariscos (FDA, 2005). La aplicación de dosis bajas de radiaciones ionizantes (de hasta 10 kGy) está autorizada en España para eliminar bacterias patógenas no esporuladas de algunos alimentos, pero no en productos de la pesca (BOE, 2001).

Conclusiones del Comité Científico

En el presente informe se describen los principales factores asociados al riesgo de la presencia de *V. cholerae* en productos de la pesca, incluidos los langostinos congelados. Los datos más recientes acerca de la prevalencia y brotes de infección alimentaria causados por especies patógenas indican un riesgo bajo, principalmente asociado a casos esporádicos de ingesta de alimentos con alto grado de contaminación o prácticas de elaboración y almacenamiento deficientes. No obstante, esta valoración puede cambiar en el futuro en función de la evolución de las condiciones climáticas en los próximos años, así como de las mejoras en la recogida de datos.

En el caso de las cepas pertenecientes a los serogrupos O1 y O139 de *V. cholerae*, así como las cepas no-O1/no-O139 que portan el gen *ctx* que codifica para la toxina del cólera, su prevalencia en langostinos y otros productos de la pesca congelados importados es baja en base a la evidencia disponible al respecto. Asimismo, se considera que la transmisión del patógeno a través de los alimentos contaminados o del agua de procesado supone un riesgo bajo para el consumidor,

según las estimaciones publicadas en las distintas Evaluaciones del Riesgo Microbiológico. No obstante, debido a la sintomatología de la enfermedad (especialmente en población vulnerable) y a su rápida transmisión, se recomienda seguir aplicando un criterio de ausencia en 25 g en estos productos.

Por otro lado, a la luz de la información disponible, se ha observado un incremento de la presencia de cepas de *V. cholerae* no-01/no-0139 no toxigénicas, posiblemente debido a diferentes factores ambientales asociados con el cambio climático. La patogenicidad de estos serogrupos emergentes a través de la ingesta de alimentos contaminados no está aún bien definida. Sin embargo, en las Evaluaciones del Riesgo Microbiológico publicadas se ha visto que la probabilidad de contraer enfermedad es muy baja. Por tanto, dado el bajo nivel de riesgo de estos serogrupos para la población general, no parece necesaria, por el momento, la implementación de medidas relacionadas con la aplicación de criterios microbiológicos más allá del cumplimiento de unas Buenas Prácticas de Higiene a lo largo de cadena producción-consumo.

Con respecto al riesgo para el consumidor derivado de la presencia de *V. cholerae* en langostinos y otros productos de la pesca congelados crudos, las fases previas de lavado y puesta en hielo, junto con la aplicación de un proceso de congelación, pueden reducir la concentración del patógeno. Los tratamientos de cocción a 70 °C durante 2 minutos en el centro del producto garantizan la eliminación de *V. cholerae*. El riesgo asociado a la ingesta de langostinos congelados cocidos listos para el consumo y otros productos de la pesca está relacionado con una contaminación posterior a la cocción. Dado que el producto no se somete a ningún tratamiento de inactivación tras la cocción y con carácter previo al consumo, se hace necesario el seguimiento de unas Buenas Prácticas de Higiene y los principios del Análisis de Peligros y Puntos de Críticos de Control para reducir el riesgo de contaminación del producto.

Referencias

- AESAN (2010). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre los criterios microbiológicos para las especies patógenas del género *Vibrio* aplicables, como medidas adicionales de control en los puntos de inspección fronterizos, a productos pesqueros importados. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 12, pp: 9-36.
- Ali, M., Lopez, A.L., You, B., Kim, Y.A., Sah, Y.E., Maskery, B. y Clemens, J. (2012). The global burden of cholera. *Bulletin of the World Health Organization*, 90 (3), pp: 209-218A.
- Ali, M., Nelson, A.R., Lopez, A.L. y Sack, D.A. (2015). Updated global burden of cholera in endemic countries. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9 (6): e0003832, pp: 1-13.
- Amato, E., Riess, M., Thomas-Lopez, D., Linkevicius, M., Pitkänen, T., Wolkowicz, T., Rjabinina, J., Jernberg, C., Hjertqvist, M., MacDonald, E., Antony-Samy, J., Dalsgaard Bjerre, K., Salmenlinna, S., Fursted, K., Hansen, A. y Naseer, U. (2022). Epidemiological and microbiological investigation of a large increase in vibriosis, northern Europe. *Euro Surveillance*, 27 (28): 2101088, pp: 1-12.
- Ansaruzzaman, M., Bhuiyan, A., Safa, A., Sultana, M., Mcuamule, A., Mondlane, C., Wang, X.Y., Deen, J.L., von Seidlein, L., Clemens, J.D., Lucas, M., Sack, D.A. y Nair, G.B. (2007). Genetic diversity of El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 with hybrid traits isolated from Bangladesh and Mozambique. *International Journal of Medical Microbiology*, 297, pp: 443-449.

- Arteaga, M., Velasco, J., Rodríguez, S., Vidal, M., Arellano, C., Silva, F., Carreño, L.J., Vidal, R. y Montero, D.A. (2020). Genomic characterization of the non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* strain that caused a gastroenteritis outbreak in Santiago, Chile, 2018. *Microbial Genomics*, 6 (3): e000340, pp: 1-8.
- Ayadian, A., Tang, L., Chen, Y., Morris, J.G., Olsen, P., Johnson, J.A., Nair, G.B. y Stine, O.C. (2015). Genetic relatedness of selected clinical and environmental non-O1/O139 *Vibrio cholerae*. *International Journal of Infectious Diseases*, 37, pp: 152-158.
- Azman, A.S., Rudolph, K.E., Cummings, D.A.T. y Lessler, J. (2013). The incubation period of cholera: a systematic review. *The Journal of Infection*, 66, pp: 432-438.
- Bagchi, K., Echeverria, P., Arthur, J.D., Sethabutr, O., Serichantalergs, O. y Hoge, C.W. (1993). Epidemic of diarrhea caused by *Vibrio cholerae* non-O1 that produced heat-stable toxin among Khmers in a camp in Thailand. *Journal of Clinical Microbiology*, 31 (5), pp: 1315-1317.
- Baker-Austin, C., Trinanes, J., Hartnell, R., Taylor, N., Siitonen, A. y Martinez-Urtaza, J. (2013). Emerging *Vibrio* risk at high latitudes in response to ocean warming. *Nature Climate Change*, 3, pp: 73-77.
- Baker-Austin, C., Trinanes, J.A., Salmenlinna, S., Löfdahl, M., Siitonen, A., Taylor, N.G.H. y Martinez-Urtaza, J. (2016). Heat wave-associated vibriosis, Sweden and Finland, 2014. *Emerging Infectious Diseases*, 22 (7), pp: 1216-1220.
- Baker-Austin, C., Oliver, J.D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M.K., Qadri, F. y Martinez-Urtaza, J. (2018). *Vibrio* spp. infections. *Nature Reviews*, 4, pp: 1-19.
- Barzelighi, M.H., Bakhshi, B. y Boustanshenas, M. (2016). Genetic determinants differences between *Vibrio cholerae* biotypes. *Infection, Epidemiology and Medicine*, 2, pp: 26-30.
- Berlin, D.L., Herson, D.S., Hicks, D.T. y Hoover, D.G. (1999). Response of pathogenic *Vibrio* species to high hydrostatic pressure. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (6), pp: 2776-2780.
- BfR (2022). Bundesinstitut für Risikobewertung. Bacterial foodborne *Vibrio* infections: health risk assessment of the occurrence of *Vibrio* spp. (non-cholera vibrios) in food. Disponible en: <https://www.bfr.bund.de/cm/349/bacterial-foodborne-vibrio-infections-health-risk-assessment-of-the-occurrence-of-vibrio-spp-in-food.pdf> [acceso: 7-03-24].
- Bhandari, M., Jennison, A.V., Rathnayake, I.U. y Huygens, F. (2021). Evolution, distribution and genetics of atypical *Vibrio cholerae* - A review. *Infection, Genetics and Evolution*, 89: 104726, pp: 1-11.
- Bhandari, M., Rathnayake, I.U., Huygens, F., Nguyen, S., Heron, B. y Jennison, A.V. (2023). Genomic and Evolutionary Insights into Australian Toxigenic *Vibrio cholerae* O1 Strains. *Microbiology Spectrum*, 11 (1): e03617-22, pp: 1-15.
- Bhusan Pal, B., Mohanty, A., Biswal, B., Nayak, S.R., Das, B.K. y Lenka, P.P. (2021). Haitian variant *Vibrio cholerae* O1 Ogawa caused cholera outbreaks in Odisha. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 39, pp: 513-517.
- BOE (2001). Real Decreto 348/2001, de 4 de abril, por el que se regula la elaboración, comercialización e importación de productos alimenticios e ingredientes alimentarios tratados con radiaciones ionizantes. BOE N.º 82 de 5 de abril de 2001, pp: 12825-12830.
- Budiman, A., Kurnia, K. y Waturangi, D.E. (2022). Prevalence and molecular characterization of *Vibrio cholerae* from fruits and salad vegetables sold in Jakarta, Indonesia, using most probable number and PCR. *BMC Research Notes*, 15 (1): 63, pp: 1-9.
- Calduch, J.V., Segarra, M.M., Colomina, J., Llorca, C. y Pascual, R. (2003). Sepsis por *Vibrio cholerae* no01 en paciente inmunodeprimida. *Anales de Medicina Interna*, 20, pp: 630-632.
- Campbell, V.M., Chouljenko, A. y Hall, S.G. (2022). Depuration of live oysters to reduce *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*: A review of ecology and processing parameters. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21 (4), pp: 3480-3506.
- Cao, H., An, J., Zheng, W. y He, S. (2015). *Vibrio cholerae* pathogen from the freshwater-cultured whiteleg shrimp *Penaeus vannamei* and control with *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 130, pp: 13-20.

- Carrascosa, C., Raheem, D., Ramos, F., Saraiva, A. y Raposo, A. (2021). Microbial biofilms in the food industry—a comprehensive review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18 (4): 2014, pp: 1-31.
- Castello, A., Alio, V., Sciortino, S., Oliveri, G., Cardamone, C., Butera, G. y Costa, A. (2022). Occurrence and molecular characterization of potentially pathogenic *Vibrio* spp. in seafood collected in Sicily. *Microorganisms*, 11 (1): 53, pp: 1-11.
- Chae, M.J., Cheney, D. y Su, Y.C. (2009). Temperature effects on the depuration of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* from the American oyster (*Crassostrea virginica*). *Journal of Food Science*, 74 (2), pp: M62-M66.
- Chatterjee, T., Saha, T., Sarkar, P., Hoque, K.M., Chatterjee, B.K. y Chakrabarti, P. (2021). The gold nanoparticle reduces *Vibrio cholerae* pathogenesis by inhibition of biofilm formation and disruption of the production and structure of cholera toxin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 204: 111811.
- Chen, P.Y., Chu, X.N., Liu, L. y Hu, J.Y. (2018). Effect of salinity on medium- and low-pressure UV disinfection of *Vibrio cholerae*. *Water Science & Technology*, 77 (3-4), pp: 655-661.
- Chitov, T., Wongdao, S., Thatum, W., Puprae, T. y Sisuwan, P. (2009). Occurrence of potentially pathogenic *Vibrio* species in raw, processed, and ready-to-eat seafood and seafood products. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 3 (1), pp: 88-98.
- Chun, J., Grim, C.J., Hasan, N.A., Lee, J.H., Choi, S.Y., Haley, B.J., Tavianid, E., Jeonc, Y.S., Kimc, D.W., Leea, J.H., Brettinf, T.S., Brucef, D.C., Challacombe, J.F., Detterf, J.C., Hanf, C.S., Munkf, A.C., Chertkovf, O., Meinckef, L., Saundersf, E., Waltersg, R.A., Huq, A., Nairh, G.B. y Colwel, R.R. (2009). Comparative genomics reveals mechanism for short-term and long-term clonal transitions in pandemic *Vibrio cholerae*. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106 (36), pp: 15442-15447.
- Clemens, J.D., Nair, G.B., Ahmed, T., Qadri, F. y Holmgren, J. (2017). Cholera. *Lancet*, 390, pp: 1539-1549.
- Codex Alimentarius (2010). Comité del Codex sobre Higiene de los Alimentos (CCFH). Directrices sobre la aplicación de los principios generales de higiene de los alimentos para el control de las especies patógenas de *Vibrio* en los alimentos de origen marino. CAC/GL 73-2010. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXG%2B73-2010%252FCXG_73s.pdf [acceso: 7-03-24].
- Crump, J.A., Bopp, C.A., Greene, K.D., Kubota, K.A., Middendorf, R.L., Wells, J.G. y Mintz, E.D. (2003). Toxigenic *Vibrio cholerae* serogroup O141-associated cholera-like diarrhea and bloodstream infection in the United States. *The Journal of Infectious Diseases*, 187 (5), pp: 866-868.
- Dalsgaard, A., Huss, H.H., H-Kittikun, H. y Larsen, J.L. (1995a). Prevalence of *Vibrio cholerae* and *Salmonella* in a major shrimp production area in Thailand. *International Journal of Food Microbiology*, 28, pp: 101-113.
- Dalsgaard, A., Serichantalergs, O., Shimada, T., Sethabutu, O. y Echeverría, P. (1995b). Prevalence of *Vibrio cholerae* with heat stable enterotoxin (NAG-ST) and cholera toxin genes: restriction fragment length polymorphism of NAG-ST genes among *V. cholerae* O1 serogroups from major shrimp production area in Thailand. *Journal of Medical Microbiology*, 43, pp: 216-220.
- Das, S., Sinha, S., Suar, M., Yun, S.I., Mishra, A. y Tripathy, S.K. (2015). Solar-photocatalytic disinfection of *Vibrio cholerae* by using Ag@ZnO core-shell structure nanocomposites. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 142, pp: 68-76.
- Deeb, R., Tuffor, D., Scott, G.I., Moore, J.G. y Dow, K. (2018). Impact of climate change on *Vibrio vulnificus* abundance and exposure risk. *Estuaries and Coasts*, 41 (8), pp: 2289-2303.
- Dickinson, G., Lim, K.Y. y Jiang, S.C. (2013). Quantitative Microbial Risk Assessment of Pathogenic Vibrios in Marine Recreational Waters of Southern California. *Applied and Environmental Microbiology*, 79, pp: 294-302.
- Dutta, D., Chowdhury, G., Pazhani, G.P., Guin, S., Dutta, S., Ghosh, S., Rajendran, K., Nandy, R.K., Mukhopadhyay, A.K., Bhattacharya, M.K., Mitra, U., Takeda, Y., Nair, G.B. y Ramamurthy, T. (2013). *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 serogroups and cholera-like diarrhea, Kolkata, India. *Emerging Infectious Diseases*, 19, pp: 464-467.

- Dziejman, M., Balon, E., Boyd, D., Fraser, C.M., Heidelberg, J.F. y Mekalanos, J.J. (2002). Comparative genomic analysis of *Vibrio cholerae*: genes that correlate with cholera endemic and pandemic disease. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99 (3), pp: 1556-1561.
- ECDC (2024). Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades. *Vibrio* Map viewer. Disponible en: <https://geoportalecd.europa.eu/vibriomapviewer/> [acceso: 7-03-24].
- EFSA (2022). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Self-task mandate of the BIOHAZ panel on the public health aspects of *Vibrio* spp, related to the consumption of seafood in the EU. Disponible en: <https://open.efsa.europa.eu/questions/EFSA-Q-2022-00826> [acceso: 7-03-24].
- EFSA/ECDC (2019). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria/ Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 17 (12): 5926, pp: 1-276.
- EFSA/ECDC (2023). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria/ Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades. The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 21 (12): e8442, pp: 1-222.
- Elhadi, N., Radu, S., Chen, C.H. y Nishibuchi, M. (2004). Prevalence of potentially pathogenic *Vibrio* species in seafood marketed in Malaysia. *Journal of Food Protection*, 67, pp: 1469-1475.
- Eyles, M.J. y Davey, G.R. (1984). Microbiology of Commercial Depuration of the Sydney Rock Oyster, *Crassostrea commercialis*. *Journal of Food Protection*, 47 (9), pp: 703-706.
- FAO/OMS (2005a). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Risk Assessment of *Vibrio vulnificus* in Raw Oysters. Microbiological Risk Assessment Series No. 8. Disponible en: <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra8.pdf> [acceso: 7-03-24].
- FAO/OMS (2005b). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Risk assessment of choleraogenic *Vibrio cholerae* O1 and O139 in warm-water shrimp in international trade. Microbiological Risk Assessment Series No. 9. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a0253e/a0253e.pdf> [acceso: 7-03-24].
- FAO/OMS (2011). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. Microbiological Risk Assessment Series No. 16. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/44566> [acceso: 7-03-24].
- FAO/OMS (2016). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Selection and application of methods for the detection and enumeration of human-pathogenic halophilic *Vibrio* spp. in seafood. Microbiological Risk Assessment Series No. 22. Disponible en: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/249530/9789241565288-eng.pdf?sequence=1> [acceso: 7-03-24].
- FAO/OMS (2020). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Risk assessment tools for *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* associated with seafood. Microbiological Risk Assessment Series No. 20. Disponible en: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/330867/9789240000186-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> [acceso: 7-03-24].
- FAO/OMS (2021). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Advances in science and risk assessment tools for *Vibrio parahaemolyticus* and *V. vulnificus* associated with seafood. Microbiological Risk Assessment Series No. 35. Disponible en: <https://www.fao.org/3/cb5834en/cb5834en.pdf> [acceso: 7-03-24].
- Farina, C., Marini, F., Schiaffino, E., Luzzi, I., Dionisi, A.M., Leoni, F., Ottaviani, D. y Bordoni, S. (2010). A fatal *Vibrio cholerae* O37 enteritis. *Journal of Medical Microbiology*, 59 (12), pp: 1538-1540.
- FDA (2005). Food and Drug Administration. Irradiation in the production, processing, and handling of food. Final rule. *Federal Register*, 70 (157), pp: 48057-48073.
- Fernández-Delgado, M., Rojas, H., Duque, Z., Suárez, P., Contreras, M., García-Amado, M.A. y Alciaturi, C. (2016). Biofilm formation of *Vibrio cholerae* on stainless steel used in food processing. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 58: 47, pp: 1-4.

- Fernández-Ruiz, M., Carretero, O. y Orellana, M.Á. (2017). Bacteriemia por *Vibrio cholerae* no toxigénico: los riesgos del consumo de marisco en un paciente cirrótico. *Gastroenterología y Hepatología*, 40, pp: 358-360.
- Franco, J., Serralta-Peralta, L.E., Hernandez, J.R., Sosa-Castilla, F. y Castillo-Cocom, J.A. (2015). Prevalence of clinically important species of the genus *Vibrio* in catered seafood of city and port of Progreso de Castro, Yucatan, Mexico. *Medwave*, 15, pp: e6147.
- FSANZ (2005). Food Standards Australia New Zealand. Imported food risk statement RTE cooked prawns and shrimp and *Vibrio cholerae*. Disponible en: <https://www.foodstandards.gov.au/sites/default/files/2023-11/RTE%20cooked%20prawns%20and%20shrimp%20and%20V.%20cholerae.pdf> [acceso: 7-03-24].
- Gangarosa, E.J., Saghari, H., Emile, J. y Siadat, H. (1966). Detection of *Vibrio cholerae* biotype El Tor by purging. *Bulletin of the World Health Organization*, 34 (3), pp: 363-369.
- Gopal, S., Otta, S.K., Kumar, S., Karunasagar, I., Nishibuchi, M. y Karunasagar, I. (2005). The occurrence of *Vibrio* species in tropical shrimp culture environments; implications for food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 102, pp: 151-159.
- Grimes, D.L., Ford, T.E., Colwell, R.R., Baker-Austin, C., Martinez-Urtaza, J. y Capone, D.G. (2014). Viewing marine bacteria, their activity and response to environmental drivers from orbit. *Microbial Ecology*, 67 (3), pp: 1489-1500.
- Haque, Z.F., Islam, S., Sabuj, A.A.M., Pondit, A., Sarkar, A.K., Hossain, G. y Sukumar, S. (2023). Molecular detection and antibiotic resistance of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Vibrio alginolyticus* from Shrimp (*Penaeus monodon*) and shrimp environments in Bangladesh. *Aquaculture Research*, 2023: 5436552, pp: 1-11.
- Hlady, W.G. y Klontz, K.C. (1996). The epidemiology of *Vibrio* infections in Florida, 1981-1993. *The Journal of Infectious Diseases*, 173 (5), pp: 1176-1183.
- Huq, A., West, P.A., Small, E.B., Huq, M.I. y Colwell, R.R. (1984). Influence of water temperature, salinity, and pH on survival and growth of toxigenic *Vibrio cholerae* serovar 01 associated with live copepods in laboratory microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 48 (2), pp: 420-424.
- ICMSF (1996). International Commission for Microbiological Specifications for Foods. *Vibrio cholerae*. Microorganisms in foods 5: *Microbiological Specifications of Food Pathogens*. Londres. Blackie Academic and Professional, pp: 414-425.
- ICMSF (2005). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Fish and fish products. Microorganisms in food 6. *Microbial Ecology of Food Commodities*. Nueva York. Kluwer Academic/Plenum Publishers, pp: 174-249.
- Iredell, J. y Manning, P. (1994). Biotypic-specific *tcpA* genes in *Vibrio cholerae*. *FEMS Microbiology Letter*, 121 (1), pp: 47-54.
- Jain, M., Goel, A.K., Bhattacharya, P., Ghatole, M. y Kamboj, D.V. (2011). Multidrug resistant *Vibrio cholerae* 01 El Tor carrying classical *ctxB* allele involved in a cholera outbreak in South-Western India. *Acta Tropica*, 117, pp: 152-156.
- Jantapaso, H., Aksonkird, T. y Mittraparp-Arthorn, P. (2024). Characteristics of *Vibrio cholerae* isolates obtained from shrimp supply chains and inhibitory activities of rambutan (*Nephelium lappaceum* L. cv. Rong Rian) peel aqueous extract. *Food Control*, 158: 110231.
- Januário, F.E.S. y Dykes, G.A. (2005). Effect of Sodium Metabisulphite and Storage Temperature on the Survival of *Vibrio cholerae* on Prawns (*Penaeus monodon*). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, pp: 1017-1020.
- JEMRA (2021). Joint FAO/WHO Expert Meetings on Microbiological Risk Assessment. Advances in science and risk assessment tools for *Vibrio parahaemolyticus* y *V. vulnificus* associated with seafood: meeting report. Microbiological Risk Assessment series 35. Disponible en: <https://www.who.int/publications/item/9789240024878> [acceso: 7-03-24].

- Karlsson, S.L., Ax, E., Nygren, E., Källgård, S., Blomquist, M., Ekman, A., Benktander, J., Holmgren, J. y Lebens, M. (2014). Development of stable *Vibrio cholerae* O1 Hikojima type vaccine strains co-expressing the Inaba and Ogawa lipopolysaccharide antigens. *PLoS One*, 9 (11): e108521, pp: 1-13.
- Kelly, M.T. y Dinuzzo, A. (1985). Uptake and clearance of *Vibrio vulnificus* from Gulf coast oysters (*Crassostrea virginica*). *Applied and Environmental Microbiology*, 50 (6), pp: 1548-1549.
- Klinzing, D.C., Choi, S.Y., Hasan, N.A., Matias, R.R., Tayag, E., Geronimo, J., Skowronski, E., Rashed, S.M., Kawashima, K., Rosenzweig, C.N., Gibbons, H.S., Torres, B.C., Liles, V., Alfon, A.C., Juan, M.L., Natividad, F.F., Cebula, T.A. y Colwell, R.R. (2015). Hybrid *Vibrio cholerae* El Tor lacking SXT identified as the cause of a cholera outbreak in the Philippines. *mBio*, 6 (2): e00047-15, pp: 1-7.
- Krauss, H., Weber, A., Appel, M., Enders, B., Isenberg, H.D., Schiefer, H.G., Slenczka, W., von Graevenitz, A. y Zahner, H. (2003). En libro: *Zoonoses: infectious diseases transmissible from animals to humans*. 3ª edición. Washington. ASM press.
- Kural, A.G. y Chen, H. (2008). Conditions for a 5-log reduction of *Vibrio vulnificus* in oysters through high hydrostatic pressure treatment. *International Journal of Food Microbiology*, 122 (1-2), pp: 180-187.
- Le Roux, F., Wegner, K.M., Baker-Austin, C., Vezzulli, L., Osorio, C.R., Amaro, C., Ritchie, J.M., Defoirdt, T., Destoumieux-Garzón, D., Blokesch, M., Mazel, D., Jacq, A., Cava, F., Gram, L., Wendling, C.C., Strauch, E., Kirschner, A. y Huehn, S. (2015). The emergence of *Vibrio* pathogens in Europe Ecology evolution and pathogenesis. *Frontiers in Microbiology*, 6: 830, pp: 1-8.
- Lhafi, S.K. y Kuhne, M. (2007). Occurrence of *Vibrio* spp. in blue mussels (*Mytilus edulis*) from the German Wadden Sea. *The International Journal of Food Microbiology*, 116, pp: 297-300.
- Li, M., Shimada, T., Morris, J.G., Sulakvelidze, A. y Sozhamanna, S. (2002). Evidence for the emergence of non-O1 and non-O139 *Vibrio cholerae* strains with pathogenic potential by exchange of O-antigen biosynthesis regions. *Infection and Immunity*, 70 (5), pp: 2441-2443.
- Lopatek, M., Wiecezorek, K. y Osek, J. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from raw shellfish in Poland. *Journal of Food Protection*, 78, pp: 1029-1033.
- López-Hernández, K.M., Pardío-Sedas, V.T., Flores-Primo, A., Itzcoatl-Martínez, D. y Uscanga-Serrano, R. (2022). Estimación del riesgo microbiológico asociado al consumo de ostión crudo contaminado con *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus*. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 25 (1), pp: 14-24.
- Magny, G.C., Mozumder, P.K., Grim, C.J., Hasan, N.A., Naser, M.N., Alam, M., Sack, R.B., Huq, A. y Colwell, R.R. (2011). Role of Zooplankton Diversity in *Vibrio cholerae* Population Dynamics and in the Incidence of Cholera in the Bangladesh Sundarbans. *Applied and Environmental Microbiology*, 77 (17), pp: 6125-6132.
- MAPA (2023). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Informe del consumo alimentario en España 2022. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-tendencias/informe-consumo-2022-baja-res_tcm30-655390.pdf [acceso: 7-03-24].
- Martínez-Urtaza, J., Trinanes, J., Abanto, M., Lozano-Leon, A., Llovo-Taboada, J., García-Campello, M., Pousa, A., Powell, A., Baker-Austin, C. y Gonzalez-Escalona, N. (2018). Epidemic dynamics of *Vibrio parahaemolyticus* illness in a hotspot of disease emergence, Galicia, Spain. *Emerging Infectious Diseases*, 24, pp: 852-859.
- MASA (2023). Ministère de L'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire. Instruction technique DGAL/SDS-SA/2023-117. Disponible en: <https://info.agriculture.gouv.fr/gedei/site/bo-agri/instruction-2023-117> [acceso: 7-03-24].
- MASA (2024). Ministère de L'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire. Instruction technique DGAL/SDS-SA/2024-73. Disponible en: <https://info.agriculture.gouv.fr/gedei/site/bo-agri/instruction-2024-73> [acceso: 7-03-24].
- Mathebula, L., Malinga, T., Mokgoro, M., Ndwandwe, D., Wiysonge, C.S. y Gray, G. (2023). Cholera vaccine clinical trials: A cross-sectional analysis of clinical trials registries. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 19 (2): 2261168, pp: 1-7.

- McAteer, J.B., Danda, S., Nhende, T., Manamike, P., Parayiwa, T., Tarupihwa, A., Tapfumanei, O., Manangazira, P., Mhlanga, G., Garone, D.B., Martinsen, A., Aubert, R.D., Davis, W., Narra, R., Balachandra, S., Tippet, B.A. y Mintz, E. (2018). Notes from the Field: Outbreak of *Vibrio cholerae* Associated with Attending a Funeral - Chegutu District, Zimbabwe, 2018. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 67, pp: 560-561.
- Mercasa (2022). Alimentación en España 2022. 25ª edición. Disponible en: https://www.mercasa.es/wp-content/uploads/2022/12/AEE_2022_WEB.pdf [acceso: 7-03-24].
- Ministero della Salute (2019). Nota N° 0069887-P-18/12/2019. Disponible en: https://www.fnovi.it/sites/default/files/Documento_Principale_0069887-18_12_2019-DGISAN-MDS-P.pdf [acceso: 7-03-24].
- Mittal, M., Tripathi, S., Saini, A. y Mani, I. (2023). Phage for treatment of *Vibrio cholerae* infection. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 201, pp: 21-39.
- Montero, D.A., Vidal, R.M., Velasco, J., George, S., Lucero, Y., Gómez, L.A., Carreño, L.J., García-Betancourt, R. y O’Ryan, M. (2023). *Vibrio cholerae*, classification, pathogenesis, immune response, and trends in vaccine development. *Frontiers in Medicine*, 10: 1155751, pp: 1-24.
- Morris, G. (1990). Non-O group 1 *Vibrio cholerae*: a look at the epidemiology of an occasional pathogen. *Epidemiologic Reviews*, 12, pp: 179-191.
- Nair, G.B., Qadri, F., Holmgren, J., Svennerholm, A.M., Safa, A., Bhuiyan, N.A., Ahmad, Q.S., Faruque, S.M., Faruque, A.S.G., Takeda, Y. y Sack, D.A. (2006). Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *Journal of Clinical Microbiology*, 44, pp: 4211-4213.
- Nascumento, D.R., Vieira, R.H., Almeida, H.B., Patel, T.R. e Iaria, S.T. (1998). Survival of *Vibrio cholerae* O1 strains in shrimp subjected to freezing and boiling. *Journal of Food Protection*, 61 (10), pp: 1317-1320.
- Neetoo, H., Reega, K., Manoga, Z.S., Nazurally, N., Bhoyroo, V., Allam, M., Jaufeerally-Fakim, Y., Ghoorah, A.W., Jaumdally, W., Hossen, A.M., Mayghun, F., Ismail, A. y Hosenally, M. (2022). Prevalence, genomic characterization, and risk assessment of human pathogenic *Vibrio* species in seafood. *Journal of Food Protection*, 85 (11), pp: 1553-1565.
- Newton, A.E., Heiman, K.E., Schmitz, A., Török, T., Apostolou, A., Hanson, H., Gounder, P., Bohm, S., Kurkjian, K., Parsons, M.B., Talkington, D., Stroika, S., Madoff, L.C., Elson, F., Sweat, D., Cantu, V., Akwari, O., Mahon, B.E. y Mintz, E.D. (2011). Cholera in United States Associated with Epidemic in Hispaniola. *Emerging Infectious Diseases*, 17, pp: 2166-2168.
- Normanno, G., Parisi, A., Addante, N., Quaglia, N.C., Dambrosio, A., Montagna, C. y Chiocco, D. (2006). *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and microorganisms of fecal origin in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) sold in the Puglia Region (Italy). *The International Journal of Food Microbiology*, 106, pp: 219-222.
- Ocasio, D.V., Juin, S., Berendes, D., Heitzinger, K., Prentice-Mott, G., Desormeaux, A.M., Charles, P.D.J., Rigodon, J., Pelletier, V., Jean Louis, R., Vertefeuille, J., Boncy, J., Joseph, G., Compère, V., Lafontant, D., Andrecy, L.L., Michel, E., Pierre, K., Thermidor, E., Fitter, D., Grant-Greene, Y., Lozier, M., Marseille, S. y CDC Haiti Cholera Response Group (2023). Cholera Outbreak - Haiti, September 2022-January 2023. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 72 (2), pp: 21-25.
- Octavia, S., Salim, A., Kurniawan, J., Lam, C., Leung, Q., Ahsan, S., Reeves, P.R., Nair, G.B. y Lan, R. (2013). Population structure and evolution of non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* by multilocus sequence typing. *PLoS One*, 8: e65342, pp: 1-13.
- Oh, H., Yoon, Y., Ha, J., Lee, J., Shin, I.S., Kim, Y.M., Park, K.S. y Kim, S. (2021). Risk assessment of vibriosis by *Vibrio cholerae* and *Vibrio vulnificus* in whip-arm octopus consumption in South Korea. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 24 (6), pp: 207-218.
- OMS (2017). Organización Mundial de la Salud. Cholera vaccines: WHO position paper - August 2017. *Weekly epidemiological record*, 34 (92), pp: 477-500. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/258764/1/WER9234-477-498.pdf> [acceso: 7-03-24].

- OMS (2018). Organización Mundial de la Salud. Cholera, 2017. *Weekly epidemiological record*, 38 (93), pp: 489-500. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274654/WER9338.pdf> [acceso: 7-03-24].
- OMS (2023). Organización Mundial de la Salud. Cholera, 2022. *Weekly epidemiological record*, 38 (98). pp: 431-452. Disponible en: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372986/WER9838-eng-fre.pdf?sequence=1&i-sAllowed=y> [acceso: 7-03-24].
- Onifade, T.J.M., Hutchinson, R., Van Zile, K., Bodager, D., Baker, R. y Blackmore, C. (2011). Toxin producing *Vibrio cholerae* O75 outbreak, United States, March to April 2011. *Euro Surveillance*, 16 (20): 19870, pp: 1-3.
- Osei-Asare, C., Eshun, E., Apenteng, J.A., Adi-Dako, O., Kumadoh, D., Akosua, A.A. y Ohemeng, K.A. (2020). Managing *Vibrio cholerae* with a local beverage: preparation of an affordable ethanol based hand sanitizer. *Heliyon*, 6 (1): e03105, pp: 1-7.
- Ottaviani, D., Leoni, F., Rocchegiani, E., Santarelli, S., Masini, L., di Trani, V., Canonico, C., Pianetti, A., Tega, L. y Carraturo, A. (2009). Prevalence and virulence properties of nonO1 non-O139 *Vibrio cholerae* strains from seafood and clinical samples collected in Italy. *The International Journal of Food Microbiology*, 132, pp: 47-53.
- Passalacqua, P.L., Zavatta, E., Bignami, G., Serraino, A. y Serratore, P. (2016). Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* and *Vibrio vulnificus* in the clam *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) from Emilia Romagna and Sardinia, Italy. *Italian Journal of Food Safety*, 5 (1): 5709, pp: 41-46.
- Patel, N.M., Wong, M., Little, E., Ramos, A.X., Kolli, G., Fox, K.M., Melvin, J., Moore, A. y Manch, R. (2009). *Vibrio cholerae* non-O1 infection in cirrhotics: case report and literature review. *Transplant Infectious Disease*, 11, pp: 54-56.
- Pesigan, T.P., Plantilla, J. y Rolda, M. (1967). Applied studies on the viability of El Tor vibrios. *Bulletin of the World Health Organization*, 37 (5), pp: 779-786.
- Preeprem, S., Mittraparp-arthorn, P., Bhoopong, P. y Vuddhakul, V. (2014). Isolation and characterization of *Vibrio cholerae* isolates from seafood in Hat Yai city, Songkhla, Thailand. *Foodborne pathogens and disease*, 11 (11), pp: 881-886.
- Preeprem, S., Aksonkird, T., Nuidate, T., Hajimasalaeh, W., Hajiwangoh, Z. y Mittraparp-arthorn, P. (2023). Characterization and genetic relationships of *Vibrio* spp. isolated from seafood in retail markets, Yala, Thailand. *Trends in Sciences*, 20 (10), pp: 5962-5962.
- QMRA Wiki (2024). Quantitative Microbial Risk Assessment. *Vibrio cholerae*. Dose Response Experiments. Disponible en: <https://qmrawiki.org/experiments/vibrio-cholerae> [acceso: 7-03-24].
- Raghunath, P., Acharya, S., Bhanumathi, A. y Karunasagar, I. (2008). Detection and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood harvested along the southwest coast of India. *Food Microbiology*, 25, pp: 824-830.
- Rahman, M.S., Currò, S., Carraro, L., Cardazzo, B., Balzan, S., Novelli, E., Fontana, F., Caburlotto, G., Manfrin, A. y Fasolato, L. (2023). Retrospective analysis of *Vibrio* spp. isolated from marketed crustaceans using multilocus sequence analysis. *Italian Journal of Food Safety*, 12 (1): 11045, pp: 1-7.
- RASFF (2024). Rapid Alert System for Food and Feed. Disponible en: https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/?event=SearchByKeyword&orderby=product_category&orderDir=desc/ [acceso: 7-03-24].
- Rehm, C., Kolm, C., Pleininger, S., Heger, F., Indra, A., Reischer, G.H., Farnleitner, A.A.H. y Kirschner, A.K.T. (2023). *Vibrio cholerae*-An emerging pathogen in Austrian bathing waters? *Wiener Klinische Wochenschrift*, 135, pp: 597-608.
- Reilly, L.A. y Hackney, C.R. (1985). Survival of *Vibrio cholerae* during storage in artificially contaminated seafoods. *Journal of Food Science*, 50, pp: 838-839.
- Restrepo, D., Huprikar, S.S., Vanhorn, K. y Bottone, E.J. (2006). O1 and nonO1 *Vibrio cholerae* bacteremia produced by hemolytic strains. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 54, pp: 145-148.
- Ripabelli, G., Sammarco, M.L., Grasso, G.M., Fanelli, I., Caprioli, A. y Luzzi, I. (1999). Occurrence of *Vibrio* and other pathogenic bacteria in *Mytilus galloprovincialis* (mussels) harvested from Adriatic Sea, Italy. *The International Journal of Food Microbiology*, 49, pp: 43-48.

- Rivera, I.N.G., Lipp, E.K., Gil, A., Choopun, N., Huq, A. y Colwell, R.R. (2003). Method of DNA extraction and application of multiplex polymerase chain reaction to detect toxigenic *Vibrio cholerae* O1 and O139 from aquatic ecosystems. *Environmental Microbiology*, 5, pp: 599-606.
- Robert-Pillot, A., Copin, S., Himber, C., Gay, M. y Quilici, M.L. (2014). Occurrence of the three major *Vibrio* species pathogenic for human in seafood products consumed in France using real-time PCR. *The International Journal of Food Microbiology*, 189, pp: 75-81.
- Ryan, K.J. y Ray, C.G. (2004). En libro: *Sherri's medical microbiology: an introduction to infectious disease*. 4ª edición. Nueva York. McGraw-Hill.
- Sack, D.A., Sack, R.B., Nair, G.B. y Siddique, A.K. (2004). Cholera. *Lancet*, 363, pp: 223-233.
- Safa, A., Nair, G.B. y Kong, R.Y.C. (2010). Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends in Microbiology*, 18, pp: 46-54.
- Seas, C. y Gotuzzo, E. (2010). *Vibrio cholerae*. En libro: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7ª edición. Filadelfia. Churchill Livingstone Elsevier, pp: 2777-2785.
- Semenza, J.C., Trinanes, J., Lohr, W., Sudre, B., Löfdahl, M., Martínez-Urtaza, J., Nichols, G.L. y Rocklöv, J. (2017). Environmental Suitability of *Vibrio* Infections in a Warming Climate: An Early Warning System. *Environmental Health Perspectives*, 125 (10): 107004, pp: 1-12.
- Sharifnia, A., Bakhshi, B. y Pourshafie, M. (2012). wbeT sequence typing and IS1004 profiling of *Vibrio cholerae* isolates. *Letters in Applied Microbiology*, 54 (4), pp: 267-271.
- Sharma, C., Maiti, S., Mukhopadhyay, A.K., Basu, A., Basu, I., Nair, G.B., Mukhopadhyaya, R., Das, B., Kar, S., Ghosh, R.K. y Ghosh, A. (1997). Unique organization of the CTX genetic element in *Vibrio cholerae* O139 strains which reemerged in Calcutta, India, in September 1996. *Journal of Clinical Microbiology*, 35 (12), pp: 3348-3350.
- Singleton, F.L., Attwell, R.W., Jangi, M.S. y Colwell, R.R. (1982). Influence of salinity and organic nutrient concentration on survival and growth of *Vibrio cholerae* in aquatic microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 43 (5), pp: 1080-1085.
- Sinyange, N., Brunkard, J.M., Kapata, N., Mazaba, M.L., Musonda, K.G., Hamoonga, R., Kapina, M., Kapaya, F., Mutale, L., Kateule, E., Nanzaluka, F., Zulu, J., Musyani, C.L., Winstead, A.V., Davis, W.W., N'cho, H.S., Mulambya, N.L., Sakubita, P., Chewe, O., Nyimbili, S., Onwuekwe, E.V.C., Adrien, N., Blackstock, A.J., Brown, T.W., Derado, G., Garrett, N., Kim, S., Hubbard, S., Kahler, A.M., Malambo, W., Mintz, E., Murphy, J., Narra, R., Rao, G.G., Riggs, M.A., Weber, N., Yard, E., Zyambo, K.D., Bakyaite, N., Monze, N., Malama, K., Mulwanda, J. y Mukonka, V.M. (2018). Cholera Epidemic - Lusaka, Zambia, October 2017–May 2018. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 67, pp: 556-559.
- Sperling, L., Alter, T. y Huehn, S. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of *Vibrio* spp. in retail and farm shrimps in Ecuador. *Journal of Food Protection*, 78, pp: 2089-2092.
- String, G.M., Huang, A. y Lantagne, D. (2022). Laboratory evaluation of the efficacy of bucket chlorination guidelines at inactivating *Vibrio cholerae* for waters of varying quality. *Journal of Water and Health*, 20 (7), pp: 1071-1083.
- Stroeher, U.H., Karageorgos, L.E., Morona, R. y Manning, P.A. (1992). Serotype conversion in *Vibrio cholerae* O1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89, pp: 2566-2570.
- Sumner, J. (2011). Food Safety Risks Associated with Prawns Consumed in Australia. Disponible en: <http://australianwildprawns.com.au/wp-content/uploads/2017/02/2009-787-Food-safety-risks-for-prawns.pdf> [acceso: 7-03-24].
- Tobin-D'Angelo, M., Smith, A.R., Bulens, S.N., Thomas, S., Hodel, M., Izumiya, H., Arakawa, E., Morita, M., Watanabe, H., Marin, C., Parsons, M.B., Greene, K., Cooper, K., Haydel, D., Bopp, C., Yu, P. y Mintz, E. (2008). Severe diarrhea caused by cholera toxin-producing *Vibrio cholerae* serogroup O75 infections acquired in the southeastern United States. *Clinical Infectious Diseases*, 47 (8), pp: 1035-1040.

- Torres-Vitela, M.R., Castillo, A., Ibarra-Velázquez, L.M., Navarro-Hidalgo, V., Rodríguez-García, M.O., Martínez-González, N.E. y Pérez-Montaño, J.A. (2000). Survival of *Vibrio cholerae* O1 in ceviche and its reduction by heat pretreatment of raw ingredients. *Journal of Food Protection*, 63 (4), pp: 445-450.
- Tra, V.T., Meng, L., Pichpol, D., Pham, N.H., Baumann, M., Alter, T. y Huehn, S. (2016). Prevalence and antimicrobial resistance of *Vibrio* spp. in retail shrimps in Vietnam. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 129, pp: 48-51.
- Trubiano, J.A., Lee, J.Y., Valcanis, M., Gregory, J., Sutton, B.A. y Holmes, N.E. (2014). Non-O1 non-O139 *Vibrio cholerae* bacteraemia in an Australian population. *Internal Medicine Journal*, 44, pp: 508-511.
- Udden, S.M., Zahid, M.S., Biswas, K., Ahmad, Q.S., Cravioto, A., Nair, G.B., Mekalanos, J.J. y Faruque, S.M. (2008). Acquisition of classical CTX prophage from *Vibrio cholerae* O141 by El Tor strains aided by lytic phages and chitin-induced competence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105 (33), pp: 11951-11956.
- UE (2002). Reglamento (CE) N° 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. DO L 31 de 1 de febrero de 2002, pp: 1-24.
- UE (2004a). Reglamento (CE) N° 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar de los animales. DO L 165 de 30 de abril de 2004, pp: 1-141.
- UE (2004b). Reglamento (CE) N° 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas para la organización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano. DO L 139 de 30 de abril de 2004, pp: 206-320.
- UE (2005). Reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DO L 338 de 22 de diciembre de 2005, pp: 1-26.
- UE (2008). Reglamento (CE) N° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre aditivos alimentarios. DO L 354 de 31 de diciembre de 2008, pp: 16-33.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 1069/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 21 de octubre de 2009, por el que se establecen las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales y los productos derivados no destinados al consumo humano y por el que se deroga el Reglamento (CE) N° 1774/2002. DO L 300 de 14 de noviembre de 2009, pp: 1-33.
- UE (2017). Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de marzo de 2017, relativo a los controles y otras actividades oficiales realizados para garantizar la aplicación de la legislación sobre alimentos y piensos, y de las normas sobre salud y bienestar de los animales, sanidad vegetal y productos fitosanitarios, y por el que se modifican los Reglamentos (CE) N° 999/2001, (CE) N° 396/2005, (CE) N° 1069/2009, (CE) N° 1107/2009, (UE) N° 1151/2012, (UE) N° 652/2014, (UE) 2016/429 y (UE) 2016/2031 del Parlamento Europeo y del Consejo, los Reglamentos (CE) N° 1/2005 y (CE) N° 1099/2009 del Consejo, y las Directivas 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE y 2008/120/CE del Consejo, y por el que se derogan los Reglamentos (CE) N° 854/2004 y (CE) N° 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, las Directivas 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE y 97/78/CE del Consejo y la Decisión 92/438/CEE del Consejo. DO L 95 de 7 de abril de 2017, pp: 1-142.
- UNE-EN ISO (2017). UNE-EN ISO 21872-1:2017. Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la determinación de *Vibrio* spp. Parte 1: Detección de *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio vulnificus* potencialmente enteropatógenos.
- Vu, T.T.T., Alter, T. y Huehn, S. (2018). Prevalence of *Vibrio* spp. in retail seafood in Berlin, Germany. *Journal of Food Protection*, 81 (4), pp: 593-597.

- Wachsmuth, I.K., Blake, P.A. y Olsvik, O. (1994). En libro: *Vibrio cholerae and cholera: molecular to global perspectives*. Washington, DC. American Society for Microbiology.
- Waldor, M.K. y Mekalanos, J.J. (1996). Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. *Science*, 272, pp: 1910-1914.
- Watson, A.P., Armstrong, A.Q., White, G.H. y Thrane, B.H. (2018). Health-based ingestion exposure guidelines for *Vibrio cholerae*: Technical basis for water reuse applications. *Science of the Total Environment*, 1, pp: 613-614.
- Watts, N., Amann, M., Arnell, N., Ayeb-Karlsson, S., Belesova, K., Boykoff, M., Byass, P., Cai, W., Campbell-Lendrum, D., Capstick, S., Chambers, J., Dalin, C., Daly, M., Dasandi, N., Davies, M., Drummond, P., Dubrow, R., L Ebi, K., Eckelman, M., Ekins, P., Escobar, L.E., Fernandez, L., Georgeson, L., Graham, H., Haggart, P., Hamilton, I., Hartinger, S., Hess, J., Kelman, I., Kieseewetter, G., Kjellstrom, T., Kniveton, D., Lemke, B., Liu, Y., Lott, M., Lowe, R., Sewe, M.O., Martinez-Urtaza, J., Maslin, M., McAllister, L., McGushin, A., Mikhaylov, S.J., Milner, J., Moradi-Lakeh, M., Morrissey, K., Murray, K., Munzert, S., Nilsson, M., Neville, T., Oreszczyn, T., Owfi, F., Pearson, O., Pencheon, D., Pye, S., Quinn, R., Rabbaniha, M., Robinson, E., Rocklöv, J., Semenza, J.C., Sherman, J., Shumake-Guillemot, J., Tabatabaie, M., Taylor, J., Trinanes, J., Wilkinson, P., Costell, A., Gong, P. y Montgomery, H. (2019). The 2019 report of The Lancet Countdown on health and climate change: ensuring that the health of a child born today is not defined by a changing climate. *Lancet*, 394, pp: 1836-1878.
- Waturangi, D.E., Amadeus, S. y Kelvianto, Y.E. (2015). Survival of enteroaggregative *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in frozen and chilled foods. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 9 (8), pp: 837-843.
- Wennberg, A.C., Tryland, I., Østensvik, Ø., Secic, I., Monshaugen, M. y Liltved, H. (2013). Effect of water treatment on the growth potential of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* in seawater. *Marine Environmental Research*, 83, pp: 10-15.
- Woodring, J., Srijan, A., Puripunyakom, P., Oransathid, W., Wongstitwilairoong, B. y Mason, C. (2012). Prevalence and antimicrobial susceptibilities of *Vibrio*, *Salmonella*, and *Aeromonas* isolates from various uncooked seafoods in Thailand. *Journal of Food Protection*, 75, pp: 41-47.
- Wright, A.C. y Schneider, K.R. (2010). Pathogenic vibrios in seafood. En libro: *Pathogens and toxins in foods: challenges and interventions*. Washington, DC. ASM Press, pp: 146-163.
- Yaashikaa, P., Saravanan, A. y Kumar, P.S. (2016). Isolation and identification of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* from prawn (*Penaeus monodon*) seafood: Preservation strategies. *Microbial Pathogenesis*, 99, pp: 5-13.
- Ye, M., Huang, Y. y Chen, H. (2012). Inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in oysters by high-hydrostatic pressure and mild heat. *Food Microbiology*, 32, pp: 179-184.
- Ye, M., Huang, Y., Gurtler, J.B., Niemira, B.A., Sites, J.E. y Chen, H. (2013). Effects of pre- or post-processing storage conditions on high-hydrostatic pressure inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* and *V. vulnificus* in oysters. *The International Journal of Food Microbiology*, 163, (2-3), pp: 146-152.
- Zhang, P., Zhou, H., Diao, B., Li, F., Du, P., Li, J., Kan, B., Morris, J.G.Jr. y Wang, D. (2014). A molecular surveillance reveals the prevalence of *Vibrio cholerae* O139 isolates in China from 1993 to 2012. *Journal of Clinical Microbiology*, 52 (4), pp: 1146-1152.
- Zhang, X., Lu, Y., Qian, H., Liu, G., Mei, Y., Jin, F., Xia, W. y Ni, F. (2020). Non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* (NOVC) bacteremia: case report and literature review, 2015–2019. *Infection and Drug Resistance*, 13, pp: 1009-1016.

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación con el riesgo asociado al consumo de complementos alimenticios que contienen creatina como ingrediente

Número de referencia: AESAN-2024-002

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 18 de junio de 2024

Grupo de trabajo

Ángel José Gutiérrez Fernández (Coordinador), Ángel Gil Izquierdo (Coordinador), Concepción María Aguilera García, Irene Bretón Lesmes, Gema Nieto Martínez, Silvia Pichardo Sánchez y María de Cortes Sánchez Mata

Comité Científico

Concepción María Aguilera García Universidad de Granada	María Pilar Guallar Castellón Universidad Autónoma de Madrid	Azucena del Carmen Mora Gutiérrez Universidad de Santiago de Compostela	María Dolores Rodrigo Aliaga Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Houda Berrada Ramdani Universitat de València	Ángel Gil Izquierdo Consejo Superior de Investigaciones Científicas	Gema Nieto Martínez Universidad de Murcia	María de Cortes Sánchez Mata Universidad Complutense de Madrid
Irene Bretón Lesmes Hospital Gregorio Marañón de Madrid	Ángel José Gutiérrez Fernández Universidad de La Laguna	Silvia Pichardo Sánchez Universidad de Sevilla	Gloria Sánchez Moragas Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Rosa María Capita González Universidad de León	Isabel Hernando Hernando Universitat Politècnica de València	María del Carmen Recio Iglesias Universitat de València	Antonio Valero Díaz Universidad de Córdoba
Araceli Díaz Perales Universidad Politécnica de Madrid	Baltasar Mayo Pérez Consejo Superior de Investigaciones Científicas	Ana María Rivas Velasco Universidad de Granada	María Roser Vila Casanovas Universitat de Barcelona

Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Gestión técnica del informe AESAN: María Ángeles Carlos Chillerón

Resumen

La creatina es una sustancia endógena sintetizada en el páncreas, riñones e hígado, que, además, puede ser aportada a través de la dieta, principalmente por la ingesta de carne y pescado, o en forma de ingrediente de complemento alimenticio, siendo el monohidrato de creatina y el clorhidrato de creatina las formas comercializadas más comunes de creatina.

La creatina es eficaz para mejorar el entrenamiento y el rendimiento del ejercicio físico de corta duración y alta intensidad. De hecho, en el Reglamento (UE) N° 432/2012 están recogidas las declaraciones de propiedades saludables atribuibles a aquellos alimentos que aporten una ingesta diaria de 3 g de creatina y relacionadas con el efecto de la creatina sobre el ejercicio físico.

En función de la información disponible en la actualidad sobre la creatina y teniendo en cuenta que monohidrato y clorhidrato de creatina son las formas de creatina comúnmente utilizadas en la fabricación de complementos alimenticios con creatina, el Comité Científico considera que las cantidades máximas diarias de 3,41 g de monohidrato de creatina y de 3,84 g de clorhidrato de creatina proporcionan una cantidad máxima diaria de 3 g/día de creatina y son aceptables desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complementos alimenticios para población adulta sana.

Palabras clave

Creatina, complemento alimenticio.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the risk associated with the consumption of food supplements that contain creatine as an ingredient

Abstract

Creatine is an endogenous substance synthesised in the pancreas, kidneys and liver, which can also be provided through the diet, mainly through the intake of meat and fish, or in the form of a food supplement ingredient, with creatine monohydrate and creatine hydrochloride being the most common marketed forms of creatine.

Creatine is effective in improving the training and performance of short duration and high intensity physical exercise. In fact, Regulation (EU) No. 432/2012 includes the health claims attributable to foods that provide a daily intake of 3 g of creatine and related to the effect of creatine on physical exercise.

Based on the information currently available on creatine and considering that creatine monohydrate and hydrochloride are the forms of creatine commonly used in the manufacture of food supplements with creatine, the Scientific Committee considers that the maximum daily amounts of 3.41 g of creatine monohydrate and 3.84 g of creatine hydrochloride provide a maximum daily amount of 3 g/day of creatine and are acceptable from the standpoint of their safety in use as food supplements for a healthy adult population.

Key words

Creatine, food supplement.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo) Gutiérrez, Á., Gil, Á., Aguilera, C., Bretón, I., Nieto, G., Pichardo, S. y Sánchez, M.C. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación con el riesgo asociado al consumo de complementos alimenticios que contienen creatina como ingrediente. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2024, 39, pp: 47-62.

1. Introducción

Como consideración general, debe tenerse en cuenta que los complementos alimenticios tienen la finalidad de complementar la dieta normal y suponen un aporte adicional de vitaminas, minerales u otras sustancias con efecto nutricional o fisiológico. Por otro lado, el aporte de una cantidad concentrada de nutrientes u otras sustancias puede suponer un riesgo de exceso de su ingesta por parte de la población que los consume. Además, en el caso de mujeres embarazadas o lactantes, población infantil, personas mayores y personas enfermas, el uso de complementos alimenticios solo debe realizarse si existen razones que lo justifiquen, ya que la evaluación de la seguridad de su uso se refiere a población adulta con una situación fisiológica normal. Los complementos alimenticios en ningún caso deben sustituir al uso de medicamentos sin una supervisión médica adecuada. Solo deben utilizarse para complementar la dieta y, de forma general, su uso no es necesario si se sigue una dieta variada y equilibrada, a la que no pueden reemplazar.

La creatina es una sustancia endógena sintetizada en el páncreas, riñones e hígado a partir de los aminoácidos esenciales arginina, glicina y metionina. Aproximadamente, el 95 % de la creatina total se almacena en el músculo esquelético, y el resto se encuentra en el cerebro, los testículos y los riñones. De la creatina presente en el músculo, aproximadamente, el 65 % se encuentra en forma de fosfocreatina (PCR, *phosphocreatine*), que es una fuente de fosfato necesario para la síntesis de adenosín trifosfato (ATP), del que los músculos dependen para obtener la energía durante el ejercicio físico de corta duración y alta intensidad (Graham y Hatton, 1999) (Fernandez y Hosey, 2009) (Robinson, 2023). Las fuentes exógenas de creatina a través de los alimentos son, principalmente, la carne y el pescado (EFSA, 2011a). Además, la creatina está disponible en forma de complemento alimenticio, siendo el monohidrato de creatina la forma comercializada más común de creatina (Robinson, 2023).

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha llevado a cabo dos evaluaciones sobre el efecto de la creatina en el ejercicio físico, concretamente, sobre la mejora del rendimiento físico en series sucesivas de ejercicios breves de alta intensidad y sobre el refuerzo del efecto del entrenamiento de resistencia en la fuerza muscular en adultos mayores de 55 años (EFSA, 2011, 2016).

Actualmente, en el Reglamento (UE) N° 432/2012 (UE, 2012) están recogidas las declaraciones de propiedades saludables atribuibles a aquellos alimentos que aporten una ingesta diaria de 3 g de creatina en determinadas condiciones. Por otra parte, el Real Decreto 1487/2009 (BOE, 2009), relativo a los complementos alimenticios, indica que podrán utilizarse en la fabricación de los complementos alimenticios las sustancias con efecto nutricional o fisiológico que se incluyen en el anexo de dicho real decreto, así como sus formas, en tal cantidad que, de acuerdo con la dosis del producto recomendada para el consumo diario efectuada por el fabricante, no se superen las cantidades máximas diarias que se establecen en el mencionado anexo.

Sin embargo, en el anexo del Real Decreto 1487/2009 al que se hace referencia (BOE, 2009), figura el monohidrato de creatina (con una dosis máxima de 3 g) y no creatina, por lo que no se pueden recoger las declaraciones de propiedades saludables de creatina establecidas por el Reglamento (UE) N° 432/2012 (UE, 2012) y en el Reglamento de Ejecución (UE) 2017/672 (UE, 2017).

Por ello, se solicitó al Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) que realizara una evaluación de la seguridad de la utilización de monohidrato de creatina como ingrediente de complementos alimenticios en una cantidad máxima diaria que aporte 3 g de creatina, cantidad para la cual se han aprobado dos declaraciones de propiedades saludables a nivel de la Unión Europea. Igualmente, se solicitó la evaluación de la seguridad de la utilización de otros compuestos distintos de monohidrato de creatina como ingredientes de complementos alimenticios en una cantidad máxima diaria que aporten una cantidad igual a 3 g diarios de creatina y sean seguros para el consumidor.

2. Características de la creatina

La creatina, ácido 2-(carbamimidóil(metil)amino) acético (N° CAS 57-00-1), también denominada ácido (alfa-metilguanido) acético, N-(aminoiminometil)-N-metilglicina, N-amidinosarcosina, N-metil-N-guanilglicina o metilglicociamina, es un aminoácido no proteico, derivado de guanidina, con fórmula $C_4H_9N_3O_2$ (Figura 1) y masa molar de 131,14 g/mol. Presenta una solubilidad en agua limitada (13 g/l a 18 °C), que aumenta con la temperatura y con la disminución del pH del medio. Su solubilidad en alcohol es muy baja (0,1 g/l) y es insoluble en éter (Jäger et al., 2011) (O'Neil, 2013).

La creatina cristaliza como monohidrato formando prismas monoclinicos. La forma anhidra se obtiene a 100 °C. Presenta un punto de fusión de 255 °C y se descompone a 303 °C. Es una base débil, con pKb de 11,02 a 25 °C, y puede formar sales con ácidos fuertes, mediante la protonación de la guanidina; además, puede actuar como agente complejante (Jäger et al., 2011) (O'Neil, 2013) (Yalkowsky et al., 2016).

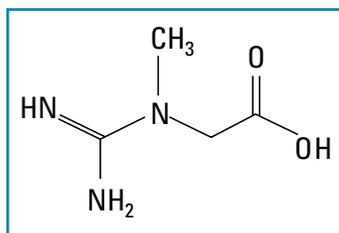


Figura 1. Estructura química de la creatina.

Esta molécula fue aislada por primera vez del músculo esquelético por M.E. Chevreul en 1835, dándole su nombre derivado del griego *kreas* (carne) (Demant y Rhodes, 1999).

La forma en que la creatina se incluye en los complementos alimenticios es mayoritariamente como monohidrato de creatina (Jäger et al., 2011), comercializado desde la década de los 90. Esta forma presenta una solubilidad en agua de 12,3 g/l a 20 °C, produciendo un pH de 7. Posteriormente, se han desarrollado otras posibles fuentes de creatina, con distintas propiedades de solubilidad, estabilidad, biodisponibilidad y eficacia, como son, entre otras, las siguientes:

- Clorhidrato de creatina, que puede disociarse en creatina y ácido clorhídrico, presentando mejor solubilidad que el monohidrato de creatina, debido al descenso de pH producido (Escalante et al., 2022) (Kreider et al., 2022).

- Sales de creatina con distintos ácidos: malato, citrato, piruvato, taurinato, piroglutamato, decanoato, gluconato o ascorbato de creatina, que pueden ser disociadas en creatina libre y el ácido correspondiente. Al disolverse también producen un descenso del pH, debido a la parte ácida de la molécula, que puede alcanzar valores de hasta 2,6 en el caso del piruvato de creatina, aumentando su solubilidad. Así, si se normaliza por la cantidad de creatina que contienen y se comparan con el monohidrato de creatina, el citrato de creatina es 1,55 veces más soluble y el piruvato de creatina es 2,63 veces más soluble que el monohidrato (Jäger et al., 2011).
- Complejos de varias moléculas de creatina con ácidos polipróticos, como, por ejemplo, el cítrico, de modo que el primer grupo carboxílico es suficientemente fuerte como para formar una sal con creatina ($pK_a = 3,09$), mientras que las siguientes moléculas ($pK_a2 = 4,75$; $pK_a3 = 5,41$) forman complejos con la sal. El compuesto formado sería, en este caso, el citrato de tricreatina (1 citrato:3 creatina), que al disolverse produce un pH ácido de 3,2 (Jäger et al., 2011). Se ha propuesto también la utilización del orotato de tricreatina; sin embargo, debe tenerse en cuenta que las sales del ácido orótico presentan un estrecho margen de seguridad (EFSA, 2009) (Andrés et al., 2017) (Escalante et al., 2022).
- Quelato de creatina en forma aniónica con magnesio divalente, en una relación 2:1 (Kreider et al., 2022).
- Ésteres metílicos o etílicos de creatina, que podrían hidrolizarse liberando creatina. Sin embargo, se ha observado que, al contrario de lo que pudiera parecer, el éster etílico de creatina se degrada rápidamente a creatinina, en el medio ácido gástrico, lo que supondría una muy baja eficacia para esta fuente de creatina (Giese y Lecher, 2009).
- Alcoholes de creatina, como creatinol-O-fosfato y dicreatinol sulfato (Jäger et al., 2011) (Kreider et al., 2022).

Las distintas formas de creatina son estables en estado sólido; por ejemplo, el monohidrato de creatina se mantiene sin signos de degradación durante, al menos, 3 años a 40 °C de temperatura (Jäger, 2003). Sin embargo, su estabilidad es mucho menor en disolución, derivando en ciclizaciones intramoleculares, que producen creatinina. Generalmente, la degradación se intensifica al descender el pH y aumentar la temperatura, aunque pH extremos (menor de 2,5 o mayor de 12,1), previenen la degradación de la creatina (Kreider et al., 2022). En general, las sales y ésteres de creatina son menos estables que el monohidrato de creatina, degradándose por mecanismo de hidrólisis intramolecular. También se ha observado que la presencia de carbohidratos puede aumentar la estabilidad de algunas sales de creatina en disolución, debido al descenso de pH que generan (Howard y Harris, 1999) (Jäger et al., 2011).

Sin embargo, en comparación con el monohidrato de creatina, hasta el momento no existe una clara evidencia de que estas nuevas formas de creatina sean significativamente más biodisponibles, eficaces y seguras que el monohidrato (Jäger et al., 2011).

3. Fuentes de creatina

La creatina es producida naturalmente en el cuerpo humano a partir de aminoácidos y se transporta a través de la sangre para ser utilizada por los músculos. Aproximadamente, el 95 % de la

creatina total en el cuerpo humano se encuentra en el músculo esquelético (Stec y Rawson, 2010). En humanos y animales, alrededor de la mitad de la creatina almacenada proviene de los alimentos, principalmente de la carne. La creatina es sintetizada por los riñones, el páncreas y el hígado (aproximadamente, 1 g/día), además de la creatina ingerida a través de los alimentos (aproximadamente, 1-5 g/día) (Alves et al., 2013). La creatina quinasa (CK, *Creatine Kinase*) cataliza la transferencia reversible del grupo N-fosforilo de la PCr al adenosín difosfato (ADP) para regenerar el ATP (Wyss y Kaddurah-Daouk, 2000). Es importante destacar que existen deficiencias genéticas en la ruta de biosíntesis de la creatina que resultan en diversas alteraciones neurológicas graves.

Existen dos fuentes principales de suministro de creatina (Mercimek-Andrews y Salomons, 2009):

- Fuentes endógenas: se estima que las necesidades diarias de creatina para un hombre de 70 kg son, aproximadamente, 2 g. Si una persona sigue una dieta mediterránea estándar, ingiere entre 0,25 y 1 g diario de creatina. Por lo tanto, el resto de la creatina necesaria para cubrir las necesidades diarias debe ser sintetizada por el propio organismo. Esta cantidad de creatina sintetizada endógenamente varía entre 1 y 1,7 g, dependiendo de la cantidad de alimentos ricos en creatina consumidos en la dieta.
- Fuentes exógenas: los alimentos que contienen mayor cantidad de creatina son el pescado y la carne roja, que tienen de 3 a 5 g por kg de alimento crudo, y algo menos cuando se han cocinado.

Algunas de las principales fuentes alimentarias de creatina son:

- Pescado: especialmente pescados como el arenque (6,5-10 g/kg), el bacalao (3 g/kg), el salmón (4,5 g/kg), el atún (4 g/kg) o la platija (2 g/kg) son ricos en creatina.
- Carne de ternera: la carne roja, como el bistec (4,5 g/kg) y otras partes de la ternera, es una de las fuentes más ricas en creatina.
- Carne de cerdo: el cerdo también contiene cantidades significativas de creatina (5 g/kg).
- Carne de pollo y conejo: aunque tiene menos creatina que la carne de ternera, el pollo sigue siendo una buena fuente de creatina (3,4 g/kg), al igual que la de conejo (3,4 g/kg).
- Mariscos: algunos mariscos también contienen creatina, aunque en menor medida que los pescados y las carnes.

Una persona que sigue una dieta mediterránea estándar suele ingerir entre 0,25 y 1 g diario de creatina. Sin embargo, las personas completamente vegetarianas prácticamente no ingieren creatina, ya que los alimentos de origen vegetal contienen muy poca o ninguna cantidad de creatina (trazas).

4. Equivalencia de contenido de creatina

Con las fórmulas comerciales de creatina se busca, por un lado, conseguir un entorno más ácido que favorezca su disolución en forma de sales de este compuesto más disociables y, por otro, la mayor cantidad posible de creatina contenida en estas formas de sal de creatina. En este sentido, el clorhidrato de creatina es una de las formas más solubles de este compuesto, aportando un 78,2 % de creatina, sin embargo, el monohidrato de creatina, siendo una forma menos soluble que la

anterior, aporta un mayor contenido de creatina disponible en sangre y en tejidos (87,9 %). Otras formas solubles de creatina aportan un contenido menor de creatina a nivel sistémico, como son el piruvato de creatina, el dicitrato de creatina y el citrato de creatina, que aportan un 59,8 %, un 57,7 % y un 40,6 % de creatina, respectivamente (Kreider et al., 2022).

5. Nutrición y metabolismo

La creatina ingerida se absorbe en el intestino y pasa a la circulación sanguínea. Una vez en la sangre, la creatina se transporta a varios tejidos, como el corazón, la musculatura lisa, el cerebro y el músculo esquelético. Sin embargo, la gran mayoría de las reservas de creatina se encuentran en el músculo esquelético.

Las razones por las cuales la mayor cantidad de creatina se localiza en el músculo esquelético son las siguientes:

- La creatina se transporta desde la sangre al músculo mediante un proceso de transporte activo, saturable y dependiente de sodio y cloro, es decir, se transporta contra un gradiente de concentración, mediado por la insulina.
- Una vez dentro de la célula muscular, la creatina queda atrapada (*trapping*) por dos mecanismos:
 - mediante la conversión (fosforilación) del 60 al 70 % del total de creatina muscular en PCr, que no puede salir del músculo porque no atraviesa la membrana celular, y
 - la creatina libre en el músculo probablemente permanezca unida a algún componente interno que aún no se conoce. Además, la creatina es una sustancia osmóticamente activa, lo que significa que su presencia en el músculo induce un aumento de líquido intracelular debido al paso de agua desde el espacio extracelular al interior de la célula.

La creatina endógena se sintetiza a partir de tres aminoácidos: glicina, arginina y metionina. El principal órgano productor de creatina es el hígado, aunque el páncreas y los riñones también sintetizan pequeñas cantidades. El músculo no tiene la capacidad de sintetizar creatina. La síntesis endógena de creatina está regulada por la cantidad de creatina y sus precursores presentes en la dieta. Por ejemplo, si la cantidad de creatina ingerida es baja, se estimula la síntesis endógena. Sin embargo, si la cantidad de creatina ingerida es alta, la síntesis endógena se inhibe o incluso se suprime. Además, el consumo elevado de precursores de creatina (como glicina y arginina) puede estimular su síntesis endógena (Bonilla et al., 2021).

La creatina se sintetiza endógenamente a partir de arginina y glicina por la arginina-glicina amidotransferasa (AGAT) a guanidinoacetato (GAA). A continuación, el GAA es metilado por la enzima guanidinoacetato N-metiltransferasa (GAMT) con S-adenosilmetionina (SAM) para formar creatina (Bonilla et al., 2021). El riñón, el páncreas, el hígado y algunas regiones del cerebro contienen AGAT, y la mayor parte de GAA se forma en el riñón y son convertidos por la GAMT en creatina en el hígado (da Silva et al., 2009). La síntesis endógena de creatina proporciona, aproximadamente, la mitad de las necesidades diarias de creatina; la cantidad restante de creatina necesaria para mantener los niveles normales en los tejidos se obtiene de la dieta, principalmente de la carne roja y el pesca-

do, o de complementos alimenticios (Brosnan y Brosnan, 2016). La creatina ingerida se absorbe en el intestino y pasa a la circulación. Una vez en la sangre, la creatina se transporta a varios tejidos, almacenándose mayoritariamente en músculo esquelético y en el cerebro.

Aproximadamente, el 95 % de la reserva de creatina del organismo se encuentra en el músculo esquelético. También se encuentran altos niveles de creatina en otras células con altas demandas energéticas como los cardiomiocitos, hepatocitos, células renales, células del oído interno, eritrocitos, espermatozoides y células fotorreceptoras. Tras la síntesis o absorción, la creatina llega a los tejidos diana a través del torrente sanguíneo y del transporte intracelular mediado por una proteína transportadora de solutos denominada transportador de creatina dependiente de sodio y cloruro (CRT, *creatine transporter*, también conocido como SLC6A8). Este transportador pertenece a una familia de transportadores de neurotransmisores conocida como familia 6 de transportadores de solutos. La creatina es uno de los principales osmolitos del sistema nervioso central, que puede desempeñar funciones importantes en condiciones fisiopatológicas del cerebro. Aunque algunos de los tejidos mencionados podrían sintetizar creatina, el CRT es necesario para transportar la creatina endógena y exógena a células con demandas energéticas elevadas y fluctuantes para una función fisiológica adecuada (Kreider y Stout, 2021).

Una vez la creatina entra en el citosol a través del transportador CRT (Tarnopolsky et al., 2001) (Santacruz y Jacobs, 2016), gracias a las isoformas de la enzima CK citosólicas y glucolíticas asociadas, se mantienen los niveles de ATP glucolítico, la relación ATP/ADP citosólica y el consumo de ATP citosólico (Wallimann et al., 2011). Además, la creatina se difunde en las mitocondrias y se acopla con el ATP producido a partir de la fosforilación oxidativa y el translocador de nucleótidos de adenina (ANT, *Adenine Nucleotide Translocator*) a través de la CK mitocondrial. A continuación, la PCr difunde de nuevo al citosol y ayuda a cubrir las necesidades energéticas. Este acoplamiento reduce la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS, *Reactive Oxygen Species*) y, por tanto, la creatina actúa como antioxidante directo y/o indirecto (Rahimi, 2011) (Saraiva et al., 2012). La lanzadera de PCr es importante en la translocación del ATP producido a partir de la fosforilación oxidativa en la mitocondria al citosol y a las zonas de la célula que necesitan ATP para el metabolismo energético (Wallimann et al., 2011). Por lo tanto, el transportador de PCr es un importante regulador del metabolismo celular.

En el tejido muscular, el 50-80 % de la creatina se encuentra en forma fosforilada, PCr, que está en equilibrio con el ATP. La tasa de reacción está altamente influenciada por la enzima CK. La PCr sirve como un reservorio de energía y tiene un mayor potencial de transferencia de grupo fosforilo que el ATP. Por lo tanto, cuando el músculo se estimula durante un período prolongado en ausencia de glucólisis o respiración, el suministro de PCr se agotará en pocas horas al mantener la concentración de ATP. Esto ocurre especialmente en el caso del músculo *post mortem*, cuando el suministro de ATP ha disminuido significativamente debido a la respiración oxidativa (Bonilla et al., 2021).

El papel de la creatina en el metabolismo energético y el impacto que la creatina tiene en el mantenimiento de la disponibilidad de energía en enfermedades que dependen del sistema CK/PCr proporciona la base metabólica sobre cómo la creatina puede afectar a la salud y a la enfermedad o proporcionar beneficios terapéuticos. La creatina desempeña un papel fundamental en el sumi-

nistro de energía a través del sistema de la CK y la PCr (Wallimann et al., 2011). En este sentido, la energía libre producida por la degradación enzimática del ATP en ADP y fosfato inorgánico (Pi) por la CK sirve como combustible primario para reponer ATP para el metabolismo celular. La descomposición de PCr en Pi y creatina con la enzima CK produce alrededor de 10,3 kcal de energía libre que puede ser utilizada para resintetizar ADP + Pi en ATP (Schlattner et al., 2016) (Ydfors et al., 2016) (Bonilla et al., 2021). La capacidad de reponer los niveles de ATP agotados durante estados de alta demanda energética como el ejercicio intenso o en condiciones en las que la producción de energía está deteriorada (por ejemplo, isquemia o hipoxia) o es insuficiente, debido a una mayor demanda (por ejemplo, en algunos estados de enfermedad), es importante para mantener la disponibilidad de ATP. De hecho, alteraciones en las concentraciones de creatina debidas a deficiencias de CRT, AGAT o GAMT pueden producir cambios funcionales en estos tejidos, dando lugar a una amplia gama de enfermedades que se agrupan en el síndrome de deficiencia de creatina. Por ejemplo, el mal funcionamiento de la CRT da lugar a niveles bajos de creatina intracelular que, aunque no es letal, induce una alteración del metabolismo energético cerebral en la misma medida que las deficiencias en las enzimas de biosíntesis de creatina. Una desregulación en el metabolismo de la creatina también ha sido implicada en varias condiciones patológicas, incluyendo disfunción muscular, cardiomiopatía y cáncer, entre otras (Kreider y Stout, 2021).

Aproximadamente, 2/3 de la creatina que se almacena en el músculo se une al Pi y se almacena como PCr, mientras que el resto se almacena como creatina libre. La reserva total de creatina (creatina + PCr) es de unos 120 mmol/kg de masa muscular seca para un individuo de 70 kg que mantiene una dieta que incluye carne roja y pescado. Se ha descrito que los vegetarianos tienen unas reservas musculares de creatina y PCr un 20-30 % más bajas que los no vegetarianos (Green et al., 1996) (Hultman et al., 1996). El cuerpo degrada aproximadamente el 1-2 % de la creatina del músculo al día en creatinina, que se excreta por la orina. La degradación de creatina a creatinina es mayor en individuos con mayor masa muscular y en individuos con mayores niveles de actividad física. Por lo tanto, un individuo de talla normal puede necesitar consumir 2-3 g/día de creatina para mantener unas reservas normales de creatina en función de la dieta, la masa muscular y los niveles de actividad física (Brosnan y Brosnan, 2016). De hecho, Wallimann et al. (2011) señalaron que, dado que las reservas de creatina no están totalmente saturadas en dietas veganas u omnívoras normales, que generalmente aportan 0 o 0,75-1,5 g/día de creatina, las necesidades dietéticas diarias de creatina pueden ser del orden de 2-4 g/día para promover la salud general.

6. Seguridad

En relación con la seguridad del uso de la creatina en complementos alimenticios, hoy en día existen más de 500 publicaciones sobre esta suplementación (Antonio et al., 2021). No obstante, pese al alto número de estudios relacionados con el efecto de la creatina como complemento alimenticio, aún existe una relativa incertidumbre respecto a la seguridad relacionada con la utilización de esta sustancia en ciertos grupos de población.

La ingesta normal de creatina a través de los alimentos se corresponde, aproximadamente, con 1 g creatina/día, que se equipara con la cantidad producida endógenamente (Balsom et al., 1994).

Incluso en población con dietas especiales, por ejemplo, veganas o vegetarianas, esta cantidad debida a la alimentación es menor (Harris et al., 1992) (Rogerson, 2017) (Kaviani et al., 2020). De acuerdo con Venderley y Campbell (2006), cuando se utilizan regímenes de suplementación con creatina basados en una ingesta de 20-25 g/día de creatina durante 3-7 días, se están ingiriendo dosis muy elevadas de creatina, que es imposible ingerirlas únicamente a través de la dieta.

Parece estar ampliamente aceptado que el efecto secundario más común de la suplementación con creatina se refiere a la retención de agua (Rosene et al., 2015) (Buck et al., 2023). Por ejemplo, en un estudio con cargas de 0,3 g/kg de peso corporal (p.c.) /día entre 5 a 7 días y dosis de mantenimiento de 0,03 g/kg p.c./día en periodos de 4 a 6 semanas se comprobó esta retención de agua (Hall y Trojian, 2013). Sin embargo, hoy en día existe controversia respecto a esta afirmación, ya que un gran número de estudios que incluyen amplios rangos de suplementación con creatina (entre 5 y 10 semanas) parecen contradecir este hecho, ya que no muestran esta retención descrita (Powers et al., 2003) (Spillane et al., 2009) (Rawson et al., 2011) (Jagim et al., 2012) (Andre et al., 2016). En definitiva, actualmente existen más evidencias que apoyan que la suplementación con creatina no provoca esta retención de líquidos referida.

Por lo tanto, la principal preocupación respecto al posible efecto tóxico del uso de la creatina se basa principalmente en los posibles efectos sobre la función renal. Hay que tener en cuenta que, tras la degradación no enzimática a creatinina, tanto de la creatina como de la PCr, aquella es transportada vía sanguínea y excretada vía urinaria (Ropero-Miller et al., 2000) (Wyss y Kaddurah-Daouk, 2000). La creatina, en condiciones normales, no está presente en la orina pero, durante su suplementación, la creatina puede alcanzar niveles muy altos en orina con independencia de la edad de los sujetos (Rawson et al., 2002). Aunque la suplementación oral de creatina se lleve a cabo en cantidades de 20 g/día durante 5 días, el aumento significativo de creatina en orina y plasma no se correspondería con cambios significativos en creatinina en orina, aclaramiento de creatinina ni tasa de excreción de albúmina (Mihic et al., 2000). Son muchos los estudios que investigan los efectos de la suplementación con creatina en la función renal en diferentes grupos poblacionales de individuos sanos (Derave et al., 2004) (Carvalho et al., 2011) (Lugaresi et al., 2013) (Blancquaert et al., 2018) y enfermos (Bender et al., 2008) (Gualano et al., 2011) (Hayashi et al., 2014) (Domingues et al., 2020) y, en líneas generales, indican que no existen evidencias de que esta suplementación pueda ser perjudicial para la población general (Lonmgobardi et al., 2023).

Teniendo en cuenta estos datos, la suplementación con monohidrato de creatina hasta 30 g/día durante 5 años podría ser segura en población adulta, ya que no existe actualmente evidencia científica de efectos perjudiciales, tanto entre individuos sanos como entre poblaciones con patologías clínicas, que pudieran beneficiarse de esta suplementación (Kreider et al., 2017). Hay que tener en cuenta que la suplementación con creatina no debería ser utilizada por individuos con enfermedad renal preexistente, no obstante, aunque se haya determinado un ligero aumento en los agentes mutagénicos (metilamina y formaldehído, principalmente) en la orina después de una dosis de carga elevada de creatina (20 g/día), su excreción se mantiene dentro de un rango normal (Francaux y Poortmans, 2006). Otro de los datos a tener en cuenta, es que el consumo de creatina podría simular los indicadores de una enfermedad renal, ya que existen datos de diagnóstico erróneo de

nefropatías y de sospecha de nefrotoxicidad por drogas (Pritchard y Kalra, 1998) (Willis et al., 2010) (Williamson y New, 2014).

También se ha puesto de manifiesto el posible efecto adverso de su consumo concomitante con el etanol ya que, a pesar de que la suplementación de ratón macho con monohidrato de creatina parece proteger al hígado de una posible producción de hígado graso en dietas con alto contenido en lípidos, se ha confirmado que agrava la hepatopatía alcohólica inducida por etanol (Marinello et al., 2022). Si bien este efecto no se ha confirmado en humanos, ni en consumos moderados de etanol, es una cuestión que debería tenerse en cuenta.

Un grupo de población de especial interés es la población adolescente, ya que se ha comprobado un aumento del uso de creatina en este grupo para la práctica deportiva (Jagim et al., 2018). Por lo tanto, se deberían aumentar los esfuerzos destinados a determinar la seguridad del consumo de este complemento alimenticio en este grupo de población. En este sentido, Simpson et al. (2019) realizaron un estudio con deportistas de élite de entre 16 y 21 años, con una suplementación de 0,3 g/kg p.c./día durante 7 días y 5 g/día durante 7 semanas posteriores, hallando indicios que hacen que no se pueda excluir que la suplementación con creatina tenga un efecto adverso en las vías respiratorias de estos atletas, con especial atención a los individuos con sensibilización alérgica. Hoy en día existe una deficiencia de estudios sobre la seguridad y eficacia de la suplementación con creatina en adolescentes (Metzger et al., 2023), por lo que se debería potenciar el número de estudios referentes a este grupo poblacional.

Conclusiones del Comité Científico

En función de la información disponible en la actualidad sobre la creatina como ingrediente de complementos alimenticios y teniendo en cuenta las consideraciones generales reflejadas en el presente informe, el Comité Científico concluye que las cantidades máximas diarias de 3,41 g de monohidrato de creatina y de 3,84 g de clorhidrato de creatina, de acuerdo con la equivalencia reflejada en este informe, proporcionan una cantidad máxima diaria de 3 g/día de creatina, son aceptables desde el punto de vista de su seguridad en su uso como complementos alimenticios para población adulta sana.

Los estudios de evaluación de la seguridad del uso de monohidrato de creatina y de clorhidrato de creatina en complementos alimenticios para población no adulta son insuficientes.

Es posible que las conclusiones que se exponen deban ser revisadas en el futuro a la luz de nuevas evidencias científicas.

Referencias

- Alves, C.R., Merege Filho, C.A., Benatti, F.B., Brucki, S., Pereira, R.M., de Sá Pinto, A.L., Lima, F.R., Roschel, H. y Gualano, B. Creatine supplementation associated or not with strength training upon emotional and cognitive measures in older women: a randomized double-blind study. *PLoS One*, 8 (10): e76301, pp: 1-10.
- Andre, T., Gann, J., McKinley-Barnard, S. y Willoughby, D. (2016). Effects of Five Weeks of Resistance Training and Relatively-Dosed Creatine Monohydrate Supplementation on Body Composition and Muscle Strength, and Whole-Body Creatine Metabolism in Resistance-Trained Males. *International Journal of Kinesiology and Sports Science*, 4 (2), pp: 27-35.

- Andres, S., Ziegenhagen, R., Trefflich, I., Pevny, S., Schultrich, K., Braun, H., Schanzer, W., Hirsch-Ernst, K.I., Schafer, B. y Lampen, A. (2017). Creatine and creatine forms intended for sports nutrition. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61, pp: 1600772-1600911.
- Antonio, J., Candow, D.G., Forbes, S.C., Gualano, B., Jagim, A.R., Kreider, R.B., Rawson, E.S., Smith-Ryan, A.E., VanDusseldorp, T.A., Willoughby, D.S. y Ziegenfuss, T.N. (2021). Common questions and misconceptions about creatine supplementation: what does the scientific evidence really show? *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 18 (1): 13, pp: 1-17.
- Balsom, P.D., Soderlund, K. y Ekblom, B. (1994). Creatine in humans with special reference to creatine supplementation. *Sports Medicine*, 18, pp: 268-280.
- Bender, A., Samtleben, W., Elstner, M. y Klopstock, T. (2008). Long-term creatine supplementation is safe in aged patients with Parkinson disease. *Nutrition Research*, 28 (3), pp: 172-178.
- Blancquaert, L., Baguet, A., Bex, T., Volckaert, A., Everaert, I., Delanghe, J., Petrovic, M., Vervaet, C., De Henauw, S., Constantin-Teodosiu, D., Greenhaff, P. y Derave, W. (2018). Changing to a vegetarian diet reduces the body creatine pool in omnivorous women, but appears not to affect carnitine and carnosine homeostasis: A randomised trial. *The British Journal of Nutrition*, 119, pp: 759-770.
- BOE (2009). Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios. BOE N° 244 de 9 de octubre de 2009, pp: 85370-85378.
- Bonilla, D.A., Kreider, R.B., Stout, J.R., Forero, D.A., Kerksick, C.M., Roberts, M.D. y Rawson, E.S. (2021). Metabolic Basis of Creatine in Health and Disease: A Bioinformatics-Assisted Review. *Nutrients*, 13 (4): 1238, pp: 1-32.
- Brosnan, M.E. y Brosnan, J.T. (2016). The role of dietary creatine. *Amino Acids*, 48, pp: 1785-1791.
- Buck, E.A., Saunders, M.J., Edwards, E.S. y Womack, C.J. (2023). Body composition measured by multi-frequency bioelectrical impedance following creatine supplementation. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 63, pp: 1188-1193.
- Carvalho, A.P.P.F., Molina, G.E. y Fontana, K.E. (2011). Creatine supplementation associated with resistance training does not alter renal and hepatic functions. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 17, pp: 237-241.
- da Silva, R.P., Nissim, I., Brosnan, M.E. y Brosnan, J.T. (2009). Creatine synthesis: hepatic metabolism of guanidinoacetate and creatine in the rat *in vitro* and *in vivo*. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 296 (2), pp: E256-261.
- Demant, T.W. y Rhodes, E.C. (1999). Effects of creatine supplementation on exercise performance. *Sports Medicine*, 28, pp: 49-60.
- Derave, W., Marescau, B., Vanden Eede, E., Eijnde, B.O., De Deyn, P.P. y Hespel, P. (2004). Plasma guanidino compounds are altered by oral creatine supplementation in healthy humans. *Journal of Applied Physiology*, 97, pp: 852-857.
- Domingues, W.J.R., Ritti-Dias, R.M., Cucato, G.G., Wolosker, N., Zerati, A.E., Puech-Leao, P., Nunhes, P.M., Moliterno, A.A. y Avelar, A. (2020). Does Creatine Supplementation Affect Renal Function in Patients with Peripheral Artery Disease? A Randomized, Double Blind, Placebo-controlled, Clinical Trial. *Annals of Vascular Surgery*, 63, pp: 45-52.
- EFSA (2009). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food (ANS). Scientific Opinion on orotic acid salts as sources of orotic acid and various minerals added for nutritional purposes to food supplements. *EFSA Journal*, 7 (7): 1187, pp: 1-25.
- EFSA (2011). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to creatine and increase in physical performance during short-term, high intensity, repeated exercise bouts, increase in endurance capacity and increase in endurance performance pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No. 1924/2006. *EFSA Journal*, 9 (7): 2303, pp: 1-24.
- EFSA (2016). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Aller-

- gies (NDA). Scientific opinion on creatine in combination with resistance training and improvement in muscle strength: evaluation of a health claim pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No. 1924/2006. *EFSA Journal*, 14 (2): 4400, pp: 1-17.
- Escalante, G., Gonzalez, A.M., St Mart, D., Torres, M., Echols, J., Islas, M. y Schoenfeld, B.J. (2022). Analysis of the efficacy, safety, and cost of alternative forms of creatine available for purchase on Amazon.com: are label claims supported by science? *Heliyon*, 8 (12): e12113, pp: 1-9.
- Fernandez, M.M. y Hosey, R.G. (2009). Performance-enhancing drugs snare nonathletes, too. *Journal of Family Practice*, 58 (1), pp: 16-23.
- Francaux, M. y Poortmans, J.R. (2006). Side effects of creatine supplementation in athletes. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 1 (4), pp: 311-323.
- Giese, M.W. y Lecher, C.S. (2009). Qualitative *in vitro* NMR analysis of creatine ethyl ester pronutrient in human plasma. *International Journal of Sports Medicine*, 30 (10), pp: 766-770.
- Graham, A.S. y Hatton R.C. (1999). Creatine: a review of efficacy and safety. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 39 (6), pp: 803-810.
- Green, A.L., Hultman, E., Macdonald, I.A., Sewell, D.A. y Greenhaff, P.L. (1996). Carbohydrate ingestion augments skeletal muscle creatine accumulation during creatine supplementation in humans. *The American Journal of Physiology*, 271, pp: E821-E826.
- Gualano, B., de Salles Painelli, V., Roschel, H., Lugaresi, R., Dorea, E., Artioli, G.G., Lima, F.R., da Silva, M.E., Cunha, M.R., Seguro, A.C., Shimizu, M.H., Otaduy, M.C., Sapienza, M.T., da Costa Leite, C., Bonfá, E. y Lancha Junior, A.H. (2011). Creatine supplementation does not impair kidney function in type 2 diabetic patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *European Journal of Applied Physiology*, 111, pp: 749-756.
- Hall, M. y Trojian, T.H. (2013). Creatine supplementation. *Current Sports Medicine Reports*, 12 (4), pp: 240-244.
- Harris, R.C., Soderlund, K. y Hultman, E. (1992). Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. *Clinical Science*, 83 (3), pp: 367-374.
- Hayashi, A.P., Solis, M.Y., Sapienza, M.T., Otaduy, M.C., de Sa Pinto, A.L., Silva, C.A., Sallum, A.M., Pereira, R.M. y Gualano, B. (2014). Efficacy and safety of creatine supplementation in childhood-onset systemic lupus erythematosus: A randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Lupus*, 23, pp: 1500-1511.
- Howard, A.N. y Harris, R.C. (1999). Compositions containing creatine. United States Patent.
- Hultman, E., Söderlund, K., Timmons, J.A., Cederblad, G. y Greenhaff, P.L. (1996). Muscle creatine loading in men. *Journal of Applied Physiology*, 81, pp: 232-237.
- Jäger, R. (2003). The Use of Creatine Monohydrate in Sports Nutrition. Degussa BioActives Publications. Disponible en: <https://www.gfe-ev.de/seiten/naehrstoffee/rubriken/abc/creatinesport.pdf> [acceso: 21-02-24].
- Jäger, R., Purpura, M., Shao, A., Inoue, T. y Kreider, R.B. (2011). Analysis of the efficacy, safety, and regulatory status of novel forms of creatine. *Amino Acids*, 40, pp: 1369-1383.
- Jagim, A.R., Oliver, J.M., Sanchez, A., Galvan, E., Fluckey, J., Riechman, S., Greenwood, M., Kelly, K., Meininger, C., Rasmussen, C. y Kreider, R.B. (2012). A buffered form of creatine does not promote greater changes in muscle creatine content, body composition, or training adaptations than creatine monohydrate. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 9 (1): 43, pp: 1-18.
- Jagim, A.R., Stecker, R.A., Harty, P.S., Erickson, J.L. y Kerkisick, C.M. (2018). Safety of Creatine Supplementation in Active Adolescents and Youth: A Brief Review. *Frontiers in Nutrition*, 5: 115, pp: 1-13.
- Kaviani, M., Shaw, K. y Chilibeck, P.D. (2020). Benefits of Creatine Supplementation for Vegetarians Compared to Omnivorous Athletes: A Systematic Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17 (9): 3041, pp: 1-14.
- Kreider, R.B., Kalman, D.S., Antonio, J., Ziegenfuss, T.N., Wildman, R., Collins, R., Candow, D.G., Kleiner, S.M., Almada, A.L. y Lopez, H.L. (2017). International Society of Sports Nutrition position stand: Safety and efficacy

- of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 14: 18, pp: 1-18.
- Kreider, R.B. y Stout, J.R. (2021). Creatine in Health and Disease. *Nutrients*, 13 (2): 447, pp: 1-27.
- Kreider, R.B., Jäger, R. y Purpura, M. (2022). Bioavailability, efficacy, safety, and regulatory status of creatine and related compounds: a critical review. *Nutrients*, 14 (5): 1035, pp: 1-51.
- Longobardi, I., Gualano, B., Seguro, A.C. y Roschel, H. (2023). Is It Time for a Requiem for Creatine Supplementation-Induced Kidney Failure? A Narrative Review. *Nutrients*, 15 (6): 1466, pp: 1-17.
- Lugaresi, R., Leme, M., de Salles Painelli, V., Murai, I.H., Roschel, H., Sapienza, M.T., Lancha Junior, A.H. y Gualano, B. (2013). Does long-term creatine supplementation impair kidney function in resistance-trained individuals consuming a high-protein diet? *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 10 (1): 26, pp: 1-6.
- Marinello, P.C., Cella, P.S., Testa, M.T.J., Guirro, P.B., da Silva Brito, W.A., Padilha, C.S., Cecchini, A.L., da Silva, R.P., Duarte, J.A.R. y Deminic, R. (2022). Creatine supplementation protects against diet-induced non-alcoholic fatty liver but exacerbates alcoholic fatty liver. *Life Sciences*, 310: 121064, pp: 1-10.
- Mercimek-Andrews, S. y Salomons, G.S. (2009). Creatine Deficiency Disorders. *GeneReviews*®. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK3794/pdf/Bookshelf_NBK3794.pdf [acceso: 21-02-24].
- Metzger, G.A., Minneci, P.M., Gehred, A., Day, A. y Klingele, K.E. (2023). Creatine supplementation in the pediatric and adolescent athlete- A literature review. *Journal of Orthopaedics*, 38, pp: 73-78.
- Mihic, S., MacDonald, J.R., McKenzie, S. y Tarnopolsky, M.A. (2000). Acute creatine loading increases fat-free mass, but does not affect blood pressure, plasma creatinine, or CK activity in men and women. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32 (2), pp: 291-296.
- O'Neil, M.J. (2013). En libro: *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. 15ª edición. Cambridge. M.J. O'Neil, Royal Society of Chemistry.
- Powers, M.E., Arnold, B.L., Weltman, A.L., Perrin, D.H., Mistry, D., Kahler, D.M., Kraemer, W. y Volek, J. (2003). Creatine Supplementation Increases Total Body Water Without Altering Fluid Distribution. *Journal of Athletic Training*, 38 (1), pp: 44-50.
- Pritchard, N.R. y Kalra, P.A. (1998). Renal dysfunction accompanying oral creatine supplements. *Lancet*, 351 (9111), pp: 1252-1253.
- Rahimi, R. (2011). Creatine supplementation decreases oxidative DNA damage and lipid peroxidation induced by a single bout of resistance exercise. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 25 (12), pp: 3448-3455.
- Rawson, E.S., Clarkson, P.M., Price, T.B. y Miles, M.P. (2002). Differential response of muscle phosphocreatine to creatine supplementation in young and old subjects. *Acta Physiologica Scandinavica*, 174 (1), pp: 57-65.
- Rawson, E.S., Stec, M.J., Frederickson, S.J. y Miles, M.P. (2011). Low-dose creatine supplementation enhances fatigue resistance in the absence of weight gain. *Nutrition*, 27 (4), pp: 451-455.
- Robinson, D. (2023). Nutritional and non-medication supplements permitted for performance enhancement. Disponible en: <https://www.uptodate.com/contents/nutritional-and-non-medication-supplements-permitted-for-performance-enhancement> [acceso: 21-02-24].
- Rogerson, D. (2017). Vegan diets: practical advice for athletes and exercisers. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 14: 36, pp: 1-15.
- Ropero-Miller, J.D., Paget-Wilkes, H., Doering, P.L. y Goldberger, B.A. (2000). Effect of oral creatine supplementation on random urine creatinine, pH, and specific gravity measurements. *Clinical Chemistry*, 46, pp: 295-297.
- Rosene, J.M., Matthews, T.D., McBride, K.J., Galla, A., Haun, M., McDonald, K., Gagne, N., Lea, J., Kasen, J. y Farias, C. (2015). The effects of creatine supplementation on thermoregulation and isokinetic muscular performance following acute (3-day) supplementation. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 55 (12), pp: 1488-1496.
- Santacruz, L. y Jacobs, D.O. (2016). Structural correlates of the creatine transporter function regulation: The undiscovered country. *Amino Acids*, 48, pp: 2049-2055.

- Saraiva, A.L., Ferreira, A.P., Silva, L.F., Hoffmann, M.S., Dutra, F.D., Furian, A.F., Oliveira, M.S., Figuera, M.R. y Royes, L.F. (2012). Creatine reduces oxidative stress markers but does not protect against seizure susceptibility after severe traumatic brain injury. *Brain Research Bulletin*, 87, pp: 180-186.
- Schlattner, U., Klaus, A., Rios, S.R., Guzun, R., Kay, L. y Tokarska-Schlattner, M. (2016). Cellular compartmentation of energy metabolism: Creatine kinase microcompartments and recruitment of B-type creatine kinase to specific subcellular sites. *Amino Acids*, 48, pp: 1751-1774.
- Simpson, A.J., Horne, S., Sharp, P., Sharps, R. y Kippelen, P. (2019). Effect of Creatine Supplementation on the Airways of Youth Elite Soccer Players. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 51 (8), pp: 1582-1590.
- Spillane, M., Schoch, R., Cooke, M., Harvey, T., Greenwood, M., Kreider, R. y Willoughby, D.S. (2009). The effects of creatine ethyl ester supplementation combined with heavy resistance training on body composition, muscle performance, and serum and muscle creatine levels. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 6: 6, pp: 1-14.
- Stec, M.J. y Rawson, E.S. (2010). Benefits of creatine supplementation for older adults. *Brazilian Journal of Biomechanics*, 4 (4), pp: 215-226.
- Tarnopolsky, M.A., Parshad, A., Walzel, B., Schlattner, U. y Wallimann, T. (2001). Creatine transporter and mitochondrial creatine kinase protein content in myopathies. *Muscle Nerve*, 24, pp: 682-688.
- UE (2012). Reglamento (UE) N° 432/2012 de la Comisión, de 16 de mayo de 2012, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños. DO L 136 de 25 de mayo de 2012, pp: 1-40.
- UE (2017). Reglamento de Ejecución (UE) 2017/672 de la Comisión, de 7 de abril de 2017, por el que se autoriza una declaración relativa a las propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños, y se modifica el Reglamento (UE) N° 432/2012. DO L 97 de 8 de abril de 2017, pp: 24-26.
- Venderley, A.M. y Campbell, W.W. (2006). Vegetarian diets: nutritional considerations for athletes. *Sports Medicine*, 36 (4), pp: 293-305.
- Wallimann, T., Tokarska-Schlattner, M. y Schlattner, U. (2011). The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids*, 40, pp: 1271-1296.
- Williamson, L. y New, D. (2014). How the use of creatine supplements can elevate serum creatinine in the absence of underlying kidney pathology. *BMJ Case Report*, 2014: bcr2014204754, pp: 1-4.
- Willis, J., Jones, R., Nwokolo, N. y Levy, J. (2010). Protein and creatine supplements and misdiagnosis of kidney disease. *BMJ*, 340: b5027.
- Wyss, M. y Kaddurah-Daouk, R. (2000). Creatine and creatinine metabolism. *Physiological Reviews*, 80 (3), pp: 1107-1213.
- Yalkowsky, S.H., He, Y. y Jain, P. (2016). En libro: *Handbook of aqueous solubility data*. 2ª edición. Boca Raton. CRC Press.
- Ydfors, M., Hughes, M.C., Laham, R., Schlattner, U., Norrbom, J. y Perry, C.G. (2016). Modelling *in vivo* creatine/phosphocreatine *in vitro* reveals divergent adaptations in human muscle mitochondrial respiratory control by ADP after acute and chronic exercise. *The Journal of Physiology*, 594 (11), pp: 3127-3140.

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la programación de toma de muestras de peligros biológicos en los controles oficiales

Número de referencia: AESAN-2024-003

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 30 de julio de 2024

Grupo de trabajo

Antonio Valero Díaz (Coordinador), Rosa María Capita González, Baltasar Mayo Pérez, Azucena del Carmen Mora Gutiérrez, María Dolores Rodrigo Aliaga y María de Cortes Sánchez Mata

Comité Científico

Concepción María Aguilera García Universidad de Granada	María Pilar Guallar Castellón Universidad Autónoma de Madrid	Azucena del Carmen Mora Gutiérrez Universidad de Santiago de Compostela	María Dolores Rodrigo Aliaga Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Houda Berrada Ramdani Universitat de València	Ángel Gil Izquierdo Consejo Superior de Investigaciones Científicas	Gema Nieto Martínez Universidad de Murcia	María de Cortes Sánchez Mata Universidad Complutense de Madrid
Irene Bretón Lesmes Hospital Gregorio Marañón de Madrid	Ángel José Gutiérrez Fernández Universidad de La Laguna	Silvia Pichardo Sánchez Universidad de Sevilla	Gloria Sánchez Moragas Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Rosa María Capita González Universidad de León	Isabel Hernando Hernando Universitat Politècnica de València	María del Carmen Recio Iglesias Universitat de València	Antonio Valero Díaz Universidad de Córdoba
Araceli Díaz Perales Universidad Politécnica de Madrid	Baltasar Mayo Pérez Consejo Superior de Investigaciones Científicas	Ana María Rivas Velasco Universidad de Granada	María Roser Vila Casanovas Universitat de Barcelona

Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Gestión técnica del informe AESAN: Paula Arrabal Durán

Resumen

La Administración General del Estado establece los mecanismos de control y cooperación en materia de seguridad alimentaria con las autoridades competentes de las administraciones responsables de los controles oficiales. Con el propósito de mejorar la calidad y homogeneidad de los controles oficiales referidos a los peligros biológicos en alimentos, la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y las comunidades autónomas disponen de un Documento de orientación para la programación de toma de muestras de peligros biológicos en el marco del Plan Nacional de Control Oficial de la Cadena Alimentaria 2021-2025, el cual establece un modelo semicuantitativo que tiene en cuenta, por un lado, el impacto en la salud, considerando incidencia

y gravedad y, por otro, la prevalencia, compuesta por datos de muestras no conformes y notificaciones de alertas.

A petición de la AESAN, el Comité Científico ha valorado este Documento de orientación, y la conclusión final es que este Documento es adecuado en el momento actual, para el fin previsto. En concreto, los criterios basados en el cálculo del impacto en salud se consideran válidos para los peligros biológicos estudiados. En cuanto al cálculo de la prevalencia, se podrían considerar diferentes niveles de percentil para los parámetros de porcentaje de muestras no conformes y número de notificaciones de alertas. Se valora positivamente la utilización del factor de corrección por tratamiento de inactivación para la corrección de la puntuación asociada a la prevalencia. En cuanto a la distribución de categorías de alimentos y peligros analizados, se considera adecuada y se recomienda reevaluar esta distribución considerando datos de consumo promedio de las distintas categorías de alimentos en cada una de las comunidades autónomas. También se considera adecuado para el fin previsto el procedimiento para el cálculo del número de muestras y los intervalos de puntuación de riesgo utilizados para los diferentes pares peligro-alimento.

Finalmente, se hacen algunas sugerencias de revisión de algunos criterios en el futuro en el caso de que haya información disponible, y se indica que el Documento de orientación deberá actualizarse periódicamente a la luz de la experiencia de su aplicación, el avance en los conocimientos científicos, los cambios en la legislación y las directrices y herramientas sobre priorización y frecuencia de inspección basada en el riesgo que puedan desarrollarse a nivel nacional o de la Unión Europea..

Palabras clave

Muestreo, control oficial, peligros biológicos, priorización.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the programming of biological hazard sampling at official controls

Abstract

The General State Administration establishes the food safety control and cooperation mechanisms with the competent authorities of the administrations responsible for official controls. In order to improve the quality and homogeneity of official controls related to biological hazards in food, the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) and the autonomous communities have a Guidance document for the scheduling of biological hazard sampling within the framework of the National Plan for Official Control of the Food Chain 2021-2025, which establishes a semi-quantitative model that takes into account, on the one hand, the impact on health, considering incidence and severity, and, on the other, the prevalence, composed of data from non-compliant samples and alert notifications.

At AESAN's request, the Scientific Committee has assessed this Guidance document, and the final conclusion is that this Guidance document is suitable at the present time, for the intended

purpose. Specifically, the criteria based on the calculation of the health impact are considered valid for the biological hazards studied. Regarding the prevalence calculation, different percentile levels could be considered for the parameters of percentage of non-compliant samples and number of alert notifications. The use of the correction factor for inactivating treatment for the correction of the score associated with prevalence is positively assessed. Regarding the distribution of food categories and hazards analysed, it is considered suitable and it is recommended to re-evaluate this distribution considering average consumption data of the different food categories in each of the autonomous communities. The procedure to calculate the number of samples and the risk score intervals used for the different hazard-food pairs is also considered suitable for the intended purpose.

Finally, some suggestions are made for revising some criteria in the future in the event that information is available, and it is indicated that the Guidance document should be updated periodically in the light of the experience of its application, progress in scientific knowledge, changes in legislation and guidelines and tools on prioritisation and frequency of risk-based inspection that may be developed at national or European Union level.

Key words

Sampling, official control, biological hazards, prioritisation.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo) Valero, A., Capita, R.M., Mayo, B., Mora, A.C., Rodrigo, M.D. y Sánchez, M.C. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la programación de toma de muestras de peligros biológicos en los controles oficiales. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2024, 39, pp: 63-87.

1. Introducción

El Reglamento (UE) 2017/625 sobre controles oficiales establece en su artículo 9 que “las autoridades competentes deberán realizar controles oficiales de todos los operadores con regularidad, en función del riesgo y con la frecuencia apropiada” (UE, 2017).

Con el propósito de mejorar la calidad y homogeneidad de los controles oficiales, en 2016, se creó un grupo de trabajo para la programación de los controles oficiales de toma de muestras para análisis en el marco del Plan Nacional de Control Oficial de la Cadena Alimentaria (PNCOCA). Su objetivo principal fue diseñar una programación de la toma de muestras a nivel nacional para los controles oficiales en función del riesgo. Este grupo de trabajo lo constituyeron personal de diferentes áreas de trabajo de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y expertos en planificación de los controles y en análisis de las comunidades autónomas.

Esta programación pretendía establecer una propuesta de distribución de la toma de muestras para control oficial en todo el territorio nacional, previo análisis y evaluación de los riesgos. La programación resultante pretendía exclusivamente servir de apoyo y orientación a las comunidades autónomas para que ejecutaran sus programas de control oficial, que dispondrían de suficiente flexibilidad para aumentar el número de muestras asignado cuando las circunstancias así lo justificaran.

En 2017, la AESAN y las comunidades autónomas elaboraron un Documento de orientación para la programación de toma de muestras de peligros biológicos en el marco del PNCOCA 2021-2025. Este Documento definía un modelo semicuantitativo, en el que se establecían las variables a las que se les asignaba un valor numérico relativo para obtener una calificación final. La metodología de jerarquización se basaba en considerar, por un lado, el impacto en la salud, considerando incidencia y gravedad, y, por otro, la prevalencia, compuesta por datos de muestras no conformes y notificaciones de alertas. El Documento fue evaluado por parte del Comité Científico de la AESAN (AESAN, 2017), que concluyó que era adecuado en aquel momento para el fin previsto, y que debería actualizarse periódicamente a la luz de la experiencia de su aplicación, el avance de los conocimientos científicos, los cambios en la legislación y las directrices y herramientas sobre priorización y muestreo que puedan desarrollarse a nivel nacional o de la Unión Europea.

Se solicita al Comité Científico de la AESAN que evalúe la idoneidad de los aspectos que se describen a continuación en relación con la programación de toma de muestras de peligros biológicos en los controles oficiales y haga las aportaciones que considere necesarias, a la luz del avance de los conocimientos científicos:

- Metodología para el cálculo del impacto en salud de los peligros biológicos en los alimentos: porcentaje de casos de enfermedad atribuible a alimentos para el cálculo de la puntuación del riesgo por incidencia y cálculo de la puntuación de riesgo por gravedad.
- Orientación para la programación de toma de muestras de peligros biológicos en el marco del PNCOCA 2021-2025: en la asignación proporcional del número de muestras de los distintos peligros para el quinquenio valorar el tamaño mínimo de muestra, y en la distribución de muestras entre comunidades autónomas valorar la asignación de muestras por par peligro-alimento.

2. Descripción general de la metodología para la priorización del riesgo por la presencia de peligros biológicos en alimentos

La Ley 17/2011, de seguridad alimentaria y nutrición (BOE, 2011), indica en su artículo 15 que la Administración General del Estado establecerá mecanismos de control y cooperación en materia de seguridad alimentaria con las autoridades competentes de las administraciones responsables de los controles oficiales, en especial en lo referente a la aplicación de los planes oficiales de control. Estos mecanismos tienen como objetivo garantizar que los criterios de control oficial sean integrales, coordinados, equivalentes y proporcionados en todo el territorio nacional. Por otra parte, los controles oficiales que se establezcan serán sistemáticos, suficientemente frecuentes y basados en el riesgo. La frecuencia de los controles oficiales debe ser establecida por las autoridades competentes, teniendo en cuenta la necesidad de adaptar el esfuerzo de control al riesgo y al nivel de cumplimiento previsto en las distintas situaciones.

Los controles oficiales están dirigidos a cumplir los preceptos del Reglamento (CE) N° 2073/2005 (UE, 2005), donde se establecen los criterios microbiológicos para determinados microorganismos y alimentos, y los del Reglamento (UE) 2017/625, relativo a la toma de muestras y análisis de alimentos que las autoridades competentes deben realizar para verificar el cumplimiento de la normativa vigente (UE, 2017).

Los programas de muestreo en seguridad alimentaria en España han sido elaborados por las comunidades autónomas. Los informes anuales realizados en el marco del PNCOCA, así como las auditorías de control oficial que la Comisión Europea realiza en España y las de terceros países, reflejan cierta disparidad en la verificación del cumplimiento de las normas que establecen límites máximos de contaminantes, residuos, microorganismos y otros peligros presentes en los alimentos. Por este motivo, se planteó a las comunidades autónomas una programación nacional flexible y respetuosa con sus competencias, pero que permitiese garantizar un control del cumplimiento a nivel nacional de todos los criterios fijados en la legislación alimentaria.

Para dar cumplimiento a estas premisas, en 2016 se aprobó en la Comisión Institucional de la AESAN la creación de un grupo de trabajo que elaboró dos documentos que establecen una metodología para el cálculo del impacto en la salud de los peligros biológicos y químicos, y otros dos documentos que establecen una metodología para la programación de los muestreos para el control de estos peligros en alimentos.

2.1 Metodología para la priorización del impacto en la salud

La puntuación del riesgo en el caso de peligros biológicos se ha considerado al calcular el impacto en la salud mediante la fórmula:

$$\text{Impacto en salud} = \text{Incidencia} + \text{Gravedad} \quad \text{Ecuación 1}$$

La incidencia de la enfermedad se establece mediante la información epidemiológica (Sistema de Información Microbiológica (SIM), Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE)), en función del número de casos de enfermedades para cada peligro considerado. Una vez obtenido el

número de casos asociado a cada peligro, se calcula el porcentaje que representan los casos para cada uno de estos peligros respecto del total de casos.

Dado que una parte de los casos recopilados se asocia a enfermedades de transmisión alimentaria, se aplica un factor de corrección, según la propuesta de Havelaar et al. (2008) para la población holandesa. Dependiendo del número de casos corregido, se establece la siguiente escala semicuantitativa en base al riesgo: 4 (>40 %), 3 (40-10 %), 2 (10-5 %), 1 (<5 %), 0 (0 %).

La evaluación de la gravedad de los efectos en la salud de la población para cada peligro se realiza, de acuerdo con las conclusiones de los grupos de expertos de las agencias AESAN española y ANSES (*Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*) francesa (ANSES, 2014), en base a los años de vida ajustados por discapacidad (valores DALY, *Disability Adjusted Life Years*) por cada 1000 casos: 4 (>1000), 3 (101-1000), 2 (10-100), 1 (<10), 0 (0).

La puntuación final del impacto en la salud resulta de la suma de las puntuaciones de riesgo en las variables de incidencia y gravedad.

2.2 Metodología para la priorización de la prevalencia

Para el cálculo de la medida del riesgo en base a la prevalencia, se considera la siguiente fórmula:

$$\text{Prevalencia} = (\text{Vigilancia sanitaria} + \text{Notificaciones en SCIRI}) \times \text{FCTI} \quad \text{Ecuación 2}$$

La puntuación por vigilancia sanitaria se calcula a partir del porcentaje de muestras no conformes en los últimos 3 años a partir de los datos enviados a la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) para la realización de los informes anuales de zoonosis. La puntuación otorgada se establece en base a una escala semicuantitativa, considerando los siguientes porcentajes de muestras no conformes: 4 (>7 %); 3 (5-6,9 %); 2 (1,1-4,9 %); 1 (0,1-1 %) y 0 (0 %).

Por otra parte, la puntuación por notificaciones de alertas en el Sistema Coordinado de Intercambio Rápido de Información (SCIRI), se calcula a partir del número medio anual de notificaciones en SCIRI con origen o destino España en los últimos 3 años. En función del promedio anual del número de notificaciones, se establece la siguiente escala: 4 (>15); 3 (10,1-15); 2 (5,1-10); 1 (0,1-5) y 0 (0).

En función del tratamiento culinario de inactivación al que se somete el alimento previo al consumo, en caso afirmativo, se aplica un factor de corrección por tratamiento inactivador (FCTI) de 0,5 para el cálculo del riesgo final.

2.3 Asignación proporcional del número de muestras para el quinquenio

Para determinar el número de muestras a asignar para cada par peligro-alimento en función del riesgo, se ha tomado como referencia el documento de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2009), que establece un valor de 59 muestras para detectar un positivo en un lote con una proporción de un 5 % de unidades contaminadas, a un 95 % de nivel de confianza.

Teniendo en cuenta el número mínimo de 59 muestras para los pares peligro-alimento con puntuación más baja, se calcula proporcionalmente el número de muestras a tomar para cada intervalo

de puntuación obtenido teniendo en cuenta un valor máximo de 2065 muestras para aquellos pares peligro-alimento con puntuaciones de 15 y 16. Hay que tener en cuenta que el número de muestras por parte de la AESAN se programa por quinquenio, y se revisa cada año, dando margen a las comunidades autónomas a la hora de repartir los muestreos en base a sus necesidades y situación particular.

La programación quinquenal para las comunidades autónomas se establece en función del porcentaje que representa cada sector alimentario, respecto al total de ese sector en España. El valor se determina en función del número de establecimientos inscritos en el Registro General Sanitario de Empresas Alimentarias y Alimentos (RGSEAA), declarados por las comunidades autónomas en la aplicación de gestión de alertas alimentarias y control oficial (ALCON Informe Anual) para cada sector alimentario. Si bien las comunidades autónomas pueden decidir tomar las muestras en cualquier tipo de establecimiento en base a los criterios que tengan establecidos, se considera más relevante hacerlo en los fabricantes para lograr una mayor eficacia de los controles oficiales.

La programación quinquenal del número de muestras se considera orientativa, ya que no se tienen en cuenta datos de consumo, ni tampoco el tamaño de los establecimientos, ni la capacidad laboratorial de cada comunidad autónoma.

3. Revisión de las metodologías para la priorización del riesgo microbiológico en alimentos

La jerarquización o priorización de riesgos se define como una actividad de gestión de riesgos que utiliza un proceso científico para identificar las prioridades de seguridad alimentaria y asignar, en consecuencia, recursos.

Los peligros en un producto alimenticio se pueden evaluar mediante aproximaciones cualitativas (riesgo bajo, medio o alto) o cuantitativas. La aproximación cuantitativa exige calcular la incidencia y la gravedad de un peligro en el alimento. La incidencia de un peligro en un producto alimenticio (prevalencia) es el porcentaje de muestras positivas para un patógeno o de muestras por encima del Límite Máximo de Residuos (LMR) para una sustancia. La gravedad, por su parte, se puede definir como la severidad de los síntomas en la salud. La gravedad puede evaluarse también mediante aproximaciones cualitativas (riesgo bajo, medio o alto) o utilizando datos de salud pública de las estadísticas nacionales oficiales, atendiendo a la siguiente información: a) Efectos en la salud relacionados con el patógeno, tales como síntomas y secuelas; b) Número de brotes y casos asociados al patógeno; c) Número de hospitalizaciones asociadas al patógeno; y d) Número de muertes asociadas al patógeno.

Existe una amplia variedad de métodos y herramientas para la priorización de riesgos en la seguridad alimentaria (EFSA, 2012, 2015) (van der Fels-Klerx et al., 2015). De igual forma, la FAO elaboró una guía que recoge una breve descripción de los métodos seleccionados como más relevantes para la clasificación de los riesgos para la inocuidad de los alimentos (FAO, 2020). De acuerdo con el documento publicado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS, 2006), los métodos de priorización de riesgos se resumen en los siguientes tipos:

3.1 Métodos cualitativos

Son aquellos basados en organigramas de decisión y procesos deliberativos, entre otros, que requieren pocos recursos y datos (van der Fels-Klerx et al., 2015). Se utilizan idealmente como punto de partida para la elaboración de estrategias que incorporen y evalúen fuentes de datos e información más sólida a lo largo del tiempo. En este sentido, los diagramas de flujo de decisiones pueden utilizarse como herramienta de selección para identificar los parámetros que deben incluirse en modelos de clasificación de riesgos más complejos. Otra ventaja es que los resultados pueden ser utilizados fácilmente por los gestores de riesgos o los responsables de la toma de decisiones. Las principales desventajas de los métodos cualitativos de clasificación de riesgos son que, a menudo, no se basan en valores científicos cuantitativos, y que puede haber un mayor grado de incertidumbre en los resultados de los métodos cualitativos que en los cuantitativos.

3.2 Métodos semicuantitativos

Estos métodos requieren recursos moderados y cierta disponibilidad de datos. Las puntuaciones permiten clasificar los elementos, pero no proporcionan una medida cuantitativa real del riesgo o la carga de morbilidad, como ocurre con los métodos cuantitativos.

La Matriz de Riesgos (MR) y el Análisis de Decisiones Multicriterio (MCDA, *Multicriteria Decision Analysis*) son los dos métodos de priorización de riesgos semicuantitativos más comunes (van der Fels-Klerx et al., 2015). La MR puede ser un método tanto cualitativo como semicuantitativo que tiene en cuenta una amplia variedad de datos para clasificar los riesgos. Los riesgos se clasifican en categorías en función de su gravedad y probabilidad relativas. El MCDA es un conjunto de técnicas de análisis de decisiones que se ha utilizado para la priorización de peligros transmitidos por los alimentos y/o cuestiones de inocuidad en las que es necesario incorporar múltiples criterios (o factores), además de la salud pública, para fundamentar las decisiones (Ruzante et al., 2010) (FAO/OMS, 2012). El MCDA es capaz de agregar variables cualitativas y cuantitativas en una única métrica que permite ordenar las opciones que se están clasificando (por ejemplo, alimentos y/o peligros).

3.3 Métodos cuantitativos

Los métodos cuantitativos de priorización de riesgos producen estimaciones numéricas de la probabilidad de enfermedades transmitidas por los alimentos y de la gravedad de los resultados con unidades de medida. Algunos ejemplos se basan en el cálculo de métricas como los DALY, los Años de Vida Ajustados en función de la Calidad (QALY, *Quality Adjusted Life Years*), el Coste de la Enfermedad (COI, *Cost of Illness*) y el número de enfermedades, hospitalizaciones y muertes (totales y por ración de un determinado alimento). Los métodos cuantitativos requieren el desarrollo de modelos matemáticos que pueden ser deterministas (los resultados son valores únicos o estimaciones puntuales) o estocásticos/probabilísticos (los resultados se caracterizan por distribuciones de probabilidad para representar la incertidumbre y la variabilidad inherentemente asociadas). En los modelos estocásticos, los cálculos se realizan mediante simulaciones informáticas como el método Monte Carlo (EFSA, 2012). Los métodos cuantitativos son sólidos, pueden proporcionar estimacio-

nes del riesgo, y la magnitud de las diferencias entre cada elemento clasificado puede ser más evidente si se utilizan métodos probabilísticos. Sin embargo, suelen ser más complejos y requieren más conocimientos técnicos, recursos y datos que los métodos cualitativos o semicuantitativos.

En función del origen de los datos utilizados y la finalidad del procedimiento de priorización, los métodos cuantitativos se pueden clasificar en:

3.3.1 Métodos de carga de morbilidad

Los enfoques descendentes utilizan datos epidemiológicos, como el número de enfermedades notificadas a las autoridades sanitarias nacionales y detectadas por los sistemas de vigilancia, para estimar la probabilidad y la gravedad. La proporción de casos de origen alimentario, así como el vehículo alimentario que causó la enfermedad (atribución a la fuente alimentaria) son datos fundamentales para este enfoque. Dado que los casos notificados no son más que un pequeño porcentaje de todas las enfermedades, cuando se utilicen esos enfoques epidemiológicos cuantitativos también habrá que determinar la tasa de casos que no se notifican o no se diagnostican. Los datos de otros países y la bibliografía publicada podrían ser útiles en algunos casos, pero, dadas las diferencias de vigilancia, cultura y sistemas sanitarios, deben evaluarse cuidadosamente para garantizar su representatividad.

3.3.2 Evaluación cuantitativa de riesgos microbiológicos (QMRA, *Quantitative Microbial Risk Assessment*)

La QMRA se define como un proceso iterativo donde se estima el riesgo asociado a una combinación peligro-alimento a través de diversas fuentes de datos y modelos matemáticos de predicción. Algunas de las herramientas que se utilizan para la QMRA en alimentos son iRISK, sQMRA o MicroHibro, entre otras (EFSA, 2015) (Possas et al., 2022), las cuales han ido evolucionando en los últimos años para facilitar su utilización por parte de empresas, instituciones y administración sanitaria. Los resultados obtenidos a partir de una QMRA proporcionan información relevante para la priorización de riesgos y, por tanto, son de gran utilidad en los procesos de toma de decisiones.

4. Revisión y actualización de los criterios utilizados para la programación de toma de muestras de peligros biológicos en el marco del PNCOCA

4.1 Adecuación de la distribución de las categorías peligro-alimento

La categorización de los pares peligro-alimento es compleja y variable en los diferentes países de la Unión Europea y fuera de ella. Algunos sistemas se basan en el sistema FoodEx, desarrollado por la EFSA a finales de 2008 en su primera versión, y en 2011 como FoodEx2, más detallada. La última revisión de este sistema fue publicada en 2015 (FoodEx2, revisión 2). Este sistema ha permitido codificar alimentos y bebidas a través de una lista básica de productos alimenticios o descripciones de alimentos genéricos que representan el nivel mínimo de detalle necesario para las evaluaciones de la ingesta o la exposición, así como de una lista ampliada, más detallada. Los términos de la lista básica y de la lista ampliada pueden agregarse de diversos modos, según las necesidades de los diferentes ámbitos de la seguridad alimentaria (EFSA, 2016).

Basada en FoodEx2, la ANSES estableció en 2020 una selección de parejas alimento-peligro para la jerarquización y el establecimiento de prioridades (ANSES, 2020). En ella, cuando los conocimientos y datos disponibles son suficientes para concluir la ausencia de peligro en el alimento, se excluye esa pareja (por ejemplo, si el alimento no es un reservorio potencial del peligro, o bien existe una etapa que elimina el riesgo, no habiendo posibilidad significativa de contaminación secundaria). Entre las parejas no excluidas, se diferencian las llamadas parejas potenciales (presentan un riesgo bajo) y las denominadas parejas pertinentes, que corresponderían a las que suponen un riesgo significativo obtenido a partir de datos epidemiológicos, literatura científica o criterios microbiológicos recogidos en la legislación (principalmente el Reglamento (CE) N° 2073/2005 (UE, 2005) y sus modificaciones). Además, para cada pareja alimento-peligro pertinente se han identificado escenarios de riesgo elevado vinculados a situaciones (procesos de producción, prácticas de riesgo y poblaciones sensibles). Este sistema incluye bacterias, toxinas y metabolitos, virus y parásitos. En Estados Unidos, la *Food and Drug Administration* (FDA) ha establecido también diferentes programas para el muestreo de alimentos en relación a la presencia de peligros biológicos. En ellos se pone el foco especialmente en *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*, entre otros, en grupos de alimentos como frutas y hortalizas, alimentos listos para el consumo, quesos y otros grupos (FDA, 2022).

Existen algunas diferencias entre los pares establecidos por la ANSES (2020) y las categorías peligro-alimento establecidas en España en el PNCOCA 2021-2025 (AESAN, 2024a), tanto en los peligros biológicos especificados, como en las categorías de alimentos establecidas. En el caso de la metodología recomendada en este último, para el establecimiento del muestreo se ha tenido en cuenta una distribución de las categorías peligro-alimento basada en los criterios microbiológicos especificados en el Reglamento (CE) N° 2073/2005 (UE, 2005), si bien se ha seguido un criterio diferente para *L. monocytogenes*, manteniéndose la categoría 1.1 (Alimentos listos para el consumo destinados a los lactantes, y alimentos listos para el consumo destinados a usos médicos especiales), mientras que las categorías 1.2 (Alimentos listos para el consumo que pueden favorecer el desarrollo de *L. monocytogenes*, que no sean los destinados a los lactantes ni para usos médicos especiales) y 1.3 (Alimentos listos para el consumo que no pueden favorecer el desarrollo de *L. monocytogenes*, que no sean los destinados a los lactantes ni para usos médicos especiales) se han sustituido por una distribución basada en los sectores alimentarios, según ALCON Informe Anual. Por ejemplo, en la legislación se establecen categorías de alimentos amplias y otras más detalladas, y esto hace que se programen más muestras para algunos tipos de alimentos. Por ejemplo, en el Reglamento (CE) N° 2073/2005 (UE, 2005) (y modificaciones posteriores) se consideran, en el caso de *Salmonella*, seis grupos diferentes de carne y productos cárnicos, con sus respectivos criterios microbiológicos, mientras que en el caso de *L. monocytogenes* se establecen solo dos (carnes y derivados listos para el consumo que pueden favorecer y que no pueden favorecer el crecimiento de *L. monocytogenes*), con lo que en el caso de este microorganismo el número de muestras de carne y productos cárnicos analizadas es muy inferior al que corresponde a *Salmonella*.

Si bien la distribución de categorías de alimentos y peligros analizados se considera adecuada para el fin que se persigue al llevar a cabo con el control oficial de la cadena alimentaria, en las

comunidades autónomas, en relación a los peligros biológicos, podría realizarse una revisión de la misma en el futuro con el objetivo de valorar si es necesario modificarla. Por todo ello, se sugiere reevaluar esta distribución considerando variables adicionales, como el consumo de las distintas categorías de alimentos en cada una de las comunidades autónomas para conseguir una mayor uniformidad y adecuación en la toma de muestras a llevar a cabo por peligro biológico.

4.2 Metodología para el cálculo del número de muestras

Para diseñar un plan de vigilancia de peligros biológicos basado en el riesgo son necesarios tres pasos. En primer lugar, es necesario priorizar los pares peligro-alimento en función de su probabilidad de contaminación del producto muestreado, de sus consecuencias para la salud humana o de la combinación de uno o varios de estos aspectos. En segundo lugar, hay que seleccionar a los operadores de empresas alimentarias que serán objeto de muestreo. La selección puede basarse en datos históricos, pero también en factores socioeconómicos. Estos incluyen tanto factores internos, como el tamaño de la empresa, la percepción de la probabilidad y la consecuencia de producir alimentos inseguros, la presión social, así como factores externos, como la legislación vigente o el presupuesto disponible. En tercer lugar, para los pares peligro-alimento y operadores del sector alimentario seleccionados, es necesario determinar una estrategia de muestreo óptima. El número óptimo de lotes que deben muestrearse y el número óptimo de muestras por lote dependen de la prevalencia del patógeno, de la distribución del patógeno entre los lotes y dentro de ellos, y de los recursos disponibles. Además, es importante definir la estrategia de muestreo en términos de dónde y cómo deben recogerse las muestras del lote. Hasta la fecha, los estudios y revisiones al respecto se han centrado en alguno de estos tres pasos. Devleesschauwer et al. (2015) y van der Fels-Klerx et al. (2018) revisaron los métodos disponibles para la priorización de riesgos, tanto para peligros químicos como microbiológicos. Focker et al. (2018) revisaron los métodos disponibles para un seguimiento rentable de los peligros químicos y microbiológicos y, por otro lado, van Asselt et al. (2021) describieron los métodos disponibles para seleccionar operadores del sector alimentario en función del riesgo. Por último, en una revisión reciente sobre el control oficial, Focker et al. (2023) recomiendan seguir investigando para desarrollar una metodología que permita identificar combinaciones peligro-alimento relevantes para la clasificación de riesgos, desarrollar modelos genéricos y herramientas de cálculo fáciles de usar que combinen la clasificación de riesgos, la selección de operadores de empresas alimentarias y el muestreo rentable.

En la programación de toma de muestras por parte de la AESAN, a partir de las puntuaciones de riesgo obtenidas como consecuencia del sumatorio de impacto en salud y prevalencia, se realiza la programación del número de muestras para el quinquenio correspondiente.

El cálculo de toma de muestras en base a la distribución binomial define la probabilidad de aceptar o rechazar un lote siguiendo un plan de muestreo por atributos para peligros microbiológicos, donde n = número de muestras, y c = número máximo admisible de muestras positivas (ICMSF, 2002) (Zwietering et al., 2015) (FAO/OMS, 2016). Por tanto, la programación quinquenal calcula un número mínimo de muestras ($n = 59$) a partir del resultado que devuelve la distribución binomial, teniendo en cuenta una proporción del 5 % de unidades contaminadas en un lote, y asumiendo un 95 % de nivel

de confianza. Dicho valor se incrementa de forma proporcional a la puntuación obtenida, alcanzándose un máximo de 2065 muestras para aquellas categorías peligro-alimento con una puntuación en el intervalo de 15-16, tal y como se ha indicado en el apartado 2.3. Anualmente, se reevalúa la programación, teniendo en cuenta los resultados de las muestras analizadas, positivas y datos del SCIRI, siguiendo un enfoque de “ventana móvil”. Dicho enfoque es práctico, además de ofrecer una buena relación costo-beneficio en lo que respecta al chequeo continuo del funcionamiento microbiológico del proceso o del sistema de control de la inocuidad de los alimentos (FAO/OMS, 2016).

Por todo ello, en vista de la información disponible, se puede concluir que el diseño de la programación del número de muestras es adecuado para el fin previsto.

Por otra parte, basado en el análisis de los últimos datos de muestreos recopilados por las comunidades autónomas para el periodo 2019-2021 y de la programación anual de la AESAN para el quinquenio 2021-2025, se concluye que, en general, las comunidades autónomas llevan a cabo un muestreo más intensivo para la mayoría de los peligros y categorías de alimentos seleccionados. Se ha realizado un análisis comparativo entre el promedio de muestras recogidas por las comunidades autónomas y la programación por parte de la AESAN. Los valores se han relativizado a número de muestras/año. En el caso de *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp., esta relación se muestra en la Figura 1.

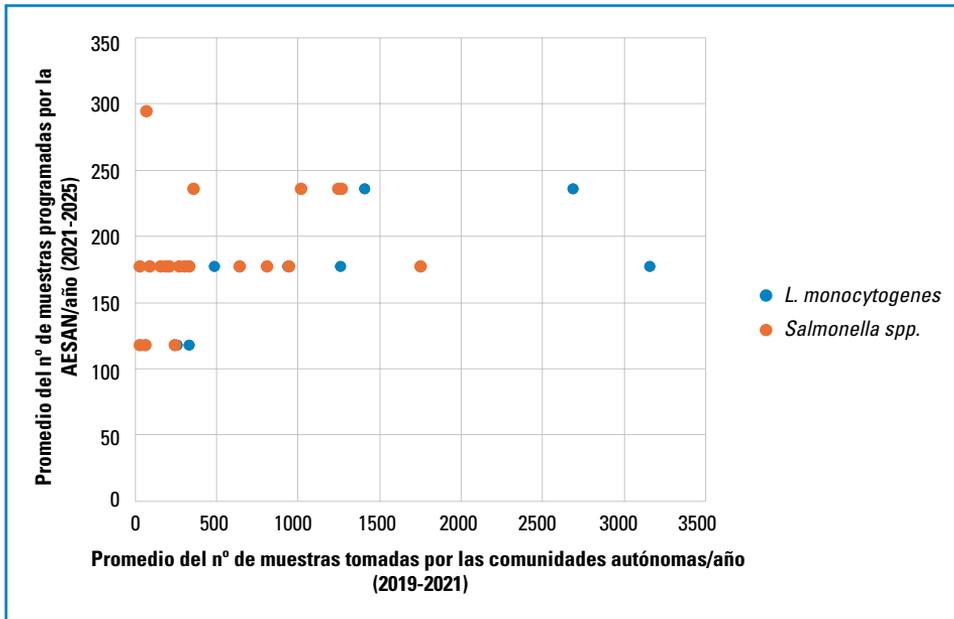


Figura 1. Representación gráfica del promedio del número de muestras tomadas por las comunidades autónomas/año en el periodo 2019-2021 frente al promedio del número de número de muestras programadas por la AESAN/año para el quinquenio 2021-2025 para la monitorización de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes*, en cada una de las categorías de alimentos seleccionadas.

Para casi todas las categorías de alimentos, los muestreos llevados a cabo por las comunidades autónomas cubren con suficiencia la programación realizada por la AESAN, excepto para *Salmonella* spp. en ciertos grupos de alimentos (carne separada mecánicamente, productos cárnicos a base de carne de aves de corral destinados a ser consumidos cocinados, gelatina y colágeno, semillas germinadas listas para el consumo y preparados deshidratados de continuación).

De igual manera, si se toma como referencia el peligro biológico, se puede comprobar igualmente que las comunidades autónomas intensificaron los muestreos en mayor medida para todos los peligros en el periodo 2019-2021, en comparación con la programación anual de muestras por parte de la AESAN.

Para valorar la adecuación de la programación de los muestreos, se ha calculado la tasa de muestreo de la siguiente forma:

Ecuación 3

$$\text{Tasa de muestreo} = \frac{\text{Promedio del nº de muestras programadas por la AESAN/año}}{\text{Promedio del nº de muestras tomadas por las comunidades autónomas/año}} \times 100$$

Atendiendo a los últimos datos, de las 36 combinaciones peligro-alimento incluidas en la programación quinquenal, en 30 de las mismas la tasa de muestreo está por debajo del 100 %, lo cual significa que el número de muestras tomadas por las comunidades autónomas es superior al de la programación quinquenal por parte de la AESAN. Especialmente, en el caso de la programación del muestreo para los pares *L. monocytogenes* - carne (productos cárnicos), *L. monocytogenes* - alimentos elaborados no incluidos en las otras categorías, excepto alimentos para lactantes y niños de corta edad e histamina - productos de la pesca procedentes de especies de pescados asociados a un alto contenido de histidina, el porcentaje es inferior al 10 %.

Por otro lado, para los pares *Salmonella* spp. en las categorías de carne separada mecánicamente, gelatina y colágeno y preparados deshidratados de continuación, la tasa de muestreo es notoriamente elevada, superior al 400 %, lo cual indica que la programación quinquenal está muy por encima del muestreo por parte de las comunidades autónomas.

Esta tendencia se corrobora a través de la comparación entre el número de muestras tomado por las comunidades autónomas y la puntuación del riesgo final asociada a cada par peligro-alimento, establecida en el Documento de orientación para la programación de toma de muestras de peligros biológicos en el marco del PNCOCA 2021-2025. Según la programación quinquenal, el número de muestras se incrementa de forma proporcional a la puntuación de riesgo final obtenida. Sin embargo, a la hora de contrastar los datos con las muestras tomadas por las comunidades autónomas, no hay una relación clara entre ambos parámetros, como se puede apreciar en la Figura 2.

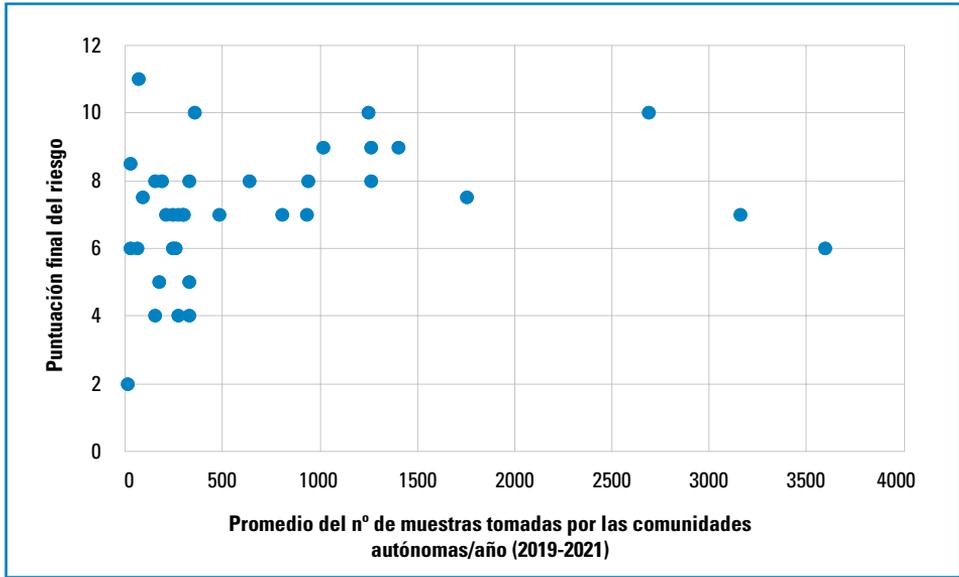


Figura 2. Representación gráfica del promedio del número de muestras tomadas por las comunidades autónomas/año en el periodo 2019-2021 frente a la puntuación final del riesgo establecida en el Documento de orientación para la programación de toma de muestras de peligros biológicos en el marco del PNCOCA para el periodo 2021-2025.

Como se ha comentado anteriormente, el procedimiento seguido para el cálculo del número de muestras, así como los intervalos de puntuación de riesgo utilizados para los diferentes pares peligro-alimento, se consideran adecuados para el fin previsto, no existiendo información bibliográfica sustancial que haga plantear una modificación de los mismos.

4.3 Criterios utilizados para el cálculo del impacto en salud y la prevalencia. Propuesta de adecuación de la programación del número de muestras

Como se ha descrito en las secciones 2.1 y 2.2, la metodología de cálculo del número de muestras está basada en el sumatorio de los criterios relacionados con impacto en salud y prevalencia en el alimento.

4.3.1 Impacto en salud

En relación con los criterios para el cálculo del impacto en salud, resultan del sumatorio de la puntuación por incidencia y gravedad.

Con respecto a la evaluación de la incidencia, uno de los criterios utilizados es el porcentaje de casos asociados a origen alimentario, al cual se le aplica un factor de corrección (Havelaar et al., 2008). De forma más reciente, la *Public Health Agency of Canada* (PHAC) llevó a cabo una consulta de expertos (*expert elicitation*) para atribuir las enfermedades entéricas a sus respectivas rutas de transmisión (Butler et al., 2015). Las consultas a expertos permiten explorar cuestiones de investigación y la incertidumbre asociada a las mismas cuando la obtención de datos es costosa o no es

tán disponibles. El estudio tenía como objetivo mejorar la comprensión del papel relativo de las vías de transmisión en la carga de las enfermedades entéricas y se centró en 28 patógenos. Además, los resultados obtenidos de la consulta de expertos se compararon con trabajos anteriores, por lo que resulta de especial importancia para comparar la combinación de pares peligro-alimento en varios países (Cressey y Lake, 2005) (Havelaar et al., 2008) (Ravel et al., 2010) (Scallan et al., 2011) (Vally et al., 2014). Este estudio explora una gama más amplia de rutas de transmisión de los patógenos entéricos (alimentos, agua, contacto con animales, persona a persona y otras) para reflejar el espectro de todas las exposiciones potenciales. Los resultados de este estudio confirman los resultados de estudios previos para algunos patógenos, al tiempo que muestran diferencias notables en otros.

En cuanto al cálculo de la puntuación de la gravedad asociada a los DALY, recientemente, el Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC) ha desarrollado y puesto a disposición del público general una herramienta para el cálculo de los DALY (ECDC, 2024). El programa se desarrolló tras una revisión exhaustiva de la literatura sobre las rutas de infección de 117 enfermedades transmisibles diferentes. Esta herramienta facilita el cálculo de los DALY mediante la simple introducción de los datos de incidencia específicos por edad, género y población, y algunos valores de ajuste.

Existen fundamentalmente dos tipos de enfoques para el cálculo de los DALY:

- Enfoque basado en la incidencia:

Esta metodología utiliza una vía de progresión de la enfermedad para estimar los DALY, una medida que describe el impacto de los Años Vividos con Discapacidad (YLD, *Years Lived with Disability*) después de la aparición de una enfermedad y de los Años de Vida Perdidos (YLL, *Years of Life Lost*) debido a la mortalidad prematura en comparación con una esperanza de vida estándar. Para determinar la esperanza de vida estándar, se utilizan tablas de vida de referencia (Haagsma et al., 2015), como las que proporciona el *Global Burden Disease* (GBD) (Murray et al., 2012).

El enfoque basado en la incidencia reconoce las secuelas actuales y futuras de las infecciones y establece la base para estimar el impacto que pueden tener las distintas intervenciones de prevención y control (Cassini et al., 2018). El modelo de progresión de la enfermedad vincula las posibles secuelas con la infección inicial, la cual depende del patógeno en cada caso particular, y asigna esa carga futura al momento de la infección.

Para las enfermedades agudas y sintomáticas, la variable clave para calcular los DALY es la incidencia. Además del número de infecciones, el cálculo de los DALY requiere varias variables adicionales específicas para cada grupo de edad y sexo. Estas variables incluyen el riesgo de desarrollar complicaciones a corto y largo plazo (resultados de salud), su duración y el peso que refleja su gravedad. Estas variables se describen a través de modelos de enfermedad o árboles de resultados, que representan la progresión de una enfermedad a lo largo del tiempo ordenando los resultados de salud relevantes después de la infección e ilustrando su dependencia condicional (Cassini et al., 2018).

- Enfoque basado en la prevalencia:

El cálculo de los DALY basado en la incidencia tiene tres grandes desventajas. En primer lugar, no refleja la carga actual de secuelas incapacitantes de una enfermedad cuya incidencia se ha

reducido sustancialmente. En segundo lugar, el cálculo de DALY requiere estimaciones tanto de la incidencia como de la duración promedio de las secuelas de la enfermedad, mientras que, para muchas condiciones de salud, lo que se recopila principalmente son datos de prevalencia. En tercer lugar, desde una perspectiva de incidencia, todos los DALY para una afección se asignan a los grupos de edad en los que la afección ocurre, mientras que los gestores de riesgos suelen estar más interesados en los grupos en los que se experimenta la pérdida de salud (OMS, 2020). Finalmente, la incorporación de la comorbilidad es más sencilla en un enfoque de prevalencia que en un enfoque de incidencia. El principal impacto de la incidencia es que cambia significativamente la distribución por edades de los DALY. Así, por ejemplo, los DALY por pérdida auditiva congénita se distribuirán de manera relativamente uniforme entre todos los grupos de edad en la perspectiva de prevalencia, mientras que todos caerán a la edad 0 en la perspectiva de incidencia.

A pesar de ello, los criterios utilizados para el cálculo del impacto en salud se consideran estables, ya que los valores de incidencia y gravedad no sufren variaciones significativas a lo largo del tiempo. Por tanto, en vista de la información disponible, se consideran válidos los criterios actualmente aplicados para la programación de toma de muestras por parte de la AESAN, si bien se recomienda valorar la posibilidad de revisar en el futuro los valores de incidencia y gravedad en base a la información y herramientas descritas en el presente informe.

4.3.2 Prevalencia en el alimento

La prevalencia de un peligro en un alimento se define como el porcentaje de muestras positivas respecto al total analizadas para un peligro en un alimento determinado.

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de muestras positivas}}{\text{N}^\circ \text{ de muestras analizadas}} \times 100 (\%) \quad \text{Ecuación 4}$$

Los criterios de prevalencia en el alimento aplican una suma de los criterios de vigilancia sanitaria y número de alertas o notificaciones en SCIRI.

Los datos de muestras positivas se obtienen tanto de los informes de muestras no conformes detectadas en la vigilancia sanitaria de alimentos de los últimos años (AESAN, 2024b), como del número medio de notificaciones en SCIRI asociadas a cada combinación peligro-alimento en los últimos años (AESAN, 2024c).

Analizando la relación entre el porcentaje de muestras no conformes y número de alertas o notificaciones en SCIRI, existe una correlación directa según los últimos datos recopilados por las comunidades autónomas en el periodo 2019-2021 (Figura 3).

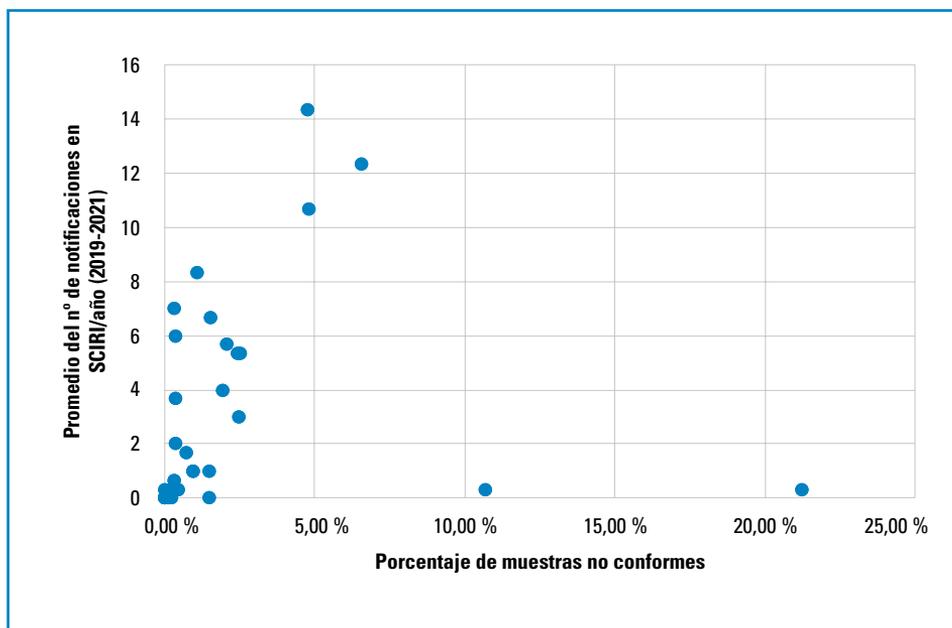


Figura 3. Representación gráfica del porcentaje de muestras no conformes frente al promedio del número de alertas notificadas en SCIRI/año para el periodo 2019-2021.

La jerarquización de los peligros en función de su prevalencia está determinada en una escala semicuantitativa en base a unos valores estáticos, tanto para el porcentaje de muestras no conformes (0% - >7%) como para el número de notificaciones en SCIRI (0 - >15).

En base a esta correlación positiva, con el propósito de conseguir una mayor adecuación de la programación quinquenal de toma de muestras al muestreo llevado a cabo por las comunidades autónomas, se propone considerar distintos niveles de percentil para los parámetros de porcentaje de muestras no conformes y número de notificaciones en SCIRI de la siguiente forma:

- i. Valores <percentil 25: puntuación= 0
- ii. Valores \geq percentil 25 y <percentil 50: puntuación= 1
- iii. Valores \geq percentil 50 y <percentil 75: puntuación= 2
- iv. Valores \geq percentil 75 y <percentil 95: puntuación= 3
- v. Valores >percentil 95: puntuación= 4

Dentro de la programación quinquenal, existen peligros biológicos que se analizan en varias categorías de alimentos, como por ejemplo *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. e histamina, donde se consideran los valores de percentil asociados al conjunto de datos de todas las categorías de alimentos analizadas para cada uno de estos peligros.

Sin embargo, otros peligros biológicos (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, enterotoxinas estafilocócicas, *Cronobacter* spp., *E. coli*, STEC y biotoxinas marinas) son analizados para una sola categoría de alimentos. En estos casos, los valores de percentil se calculan a partir de todo el conjunto de datos

recopilados acerca de porcentaje de muestras no conformes y número de notificaciones en SCIRI.

Por último, para algunos pares analizados peligro-alimento, existen valores elevados para el porcentaje de muestras no conformes y número de notificaciones en SCIRI. Por ello, se propone aumentar en 1 punto el riesgo final para aquellas combinaciones donde el valor resultante de la multiplicación de ambos parámetros sea superior al resultante de la multiplicación de los valores de percentil 95.

Teniendo en cuenta los datos obtenidos para el periodo 2019-2021 por parte de las comunidades autónomas, los percentiles asociados a cada puntuación de riesgo se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores asociados de percentil para el porcentaje de no conformidades (NC) y el número de notificaciones en SCIRI (SCIRI) y su relación con la puntuación de riesgo				
<i>L. monocytogenes</i>				
Percentil	NC (%)	SCIRI	Puntuación de riesgo	NC x SCIRI*
<25	<0,2	<0,25	0	
25-50	0,2 a <0,6	0,25 a <1,50	1	
50-75	0,6 a <2,0	1,50 a <4,42	2	
75-95	2,0 a 3,9	4,42 a 8,92	3	
>95	>3,9	>8,92	4	34,79 %
<i>Salmonella spp.</i>				
Percentil	NC (%)	SCIRI	Puntuación de riesgo	NC x SCIRI*
<25	<0,2	<0,01	0	
25-50	0,2 a <0,4	0,01 a <0,67	1	
50-75	0,4 a <2,4	0,67 a <3,33	2	
75-95	2,4 a 11,7	3,33 a 6,63	3	
>95	>11,7	>6,63	4	77,57 %
Histamina				
Percentil	NC (%)	SCIRI	Puntuación de riesgo	NC x SCIRI*
<25	<0,5	<0,01	0	
25-50	0,5 a <1,1	0,01 a <0,02	1	
50-75	1,1 a <1,3	0,02 a <4,17	2	
75-95	1,3 a 1,4	4,17 a 7,50	3	
>95	>1,4	>7,50	4	10,50 %
Total**				
Percentil	NC (%)	SCIRI	Puntuación de riesgo	NC x SCIRI*
<25	<0,1	<0,01	0	
25-50	0,1 a <0,42	0,01 a <0,83	1	
50-75	0,42 a <1,96	0,83 a <5,33	2	
75-95	1,96 a 7,58	5,33 a 11,08	3	
>95	>7,58	>11,08	4	83,99 %

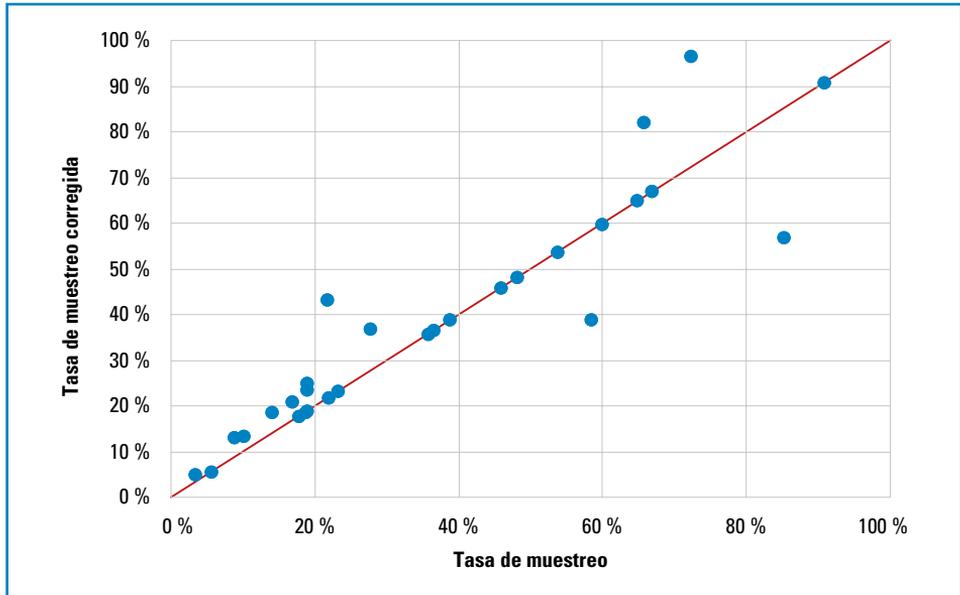
*Se otorga 1 punto adicional al riesgo final en caso de que el valor sea superior para el par peligro-alimento. Se aplica en caso de que la puntuación resultante sea ≤ 15 .

**Los valores se aplican para el caso de los peligros donde únicamente son analizados en una categoría de alimentos: *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, enterotoxinas estafilocócicas, *Cronobacter spp.*, *E. coli*, STEC y biotoxinas marinas.

Una vez aplicados estos valores, se ha estimado la tasa de muestreo corregida, relacionándose con

los valores obtenidos sin la aplicación de percentiles. Los resultados se muestran en la Figura 4a y 4b, para las tasas de muestreo inferiores y superiores al 100 %, respectivamente.

a)



b)

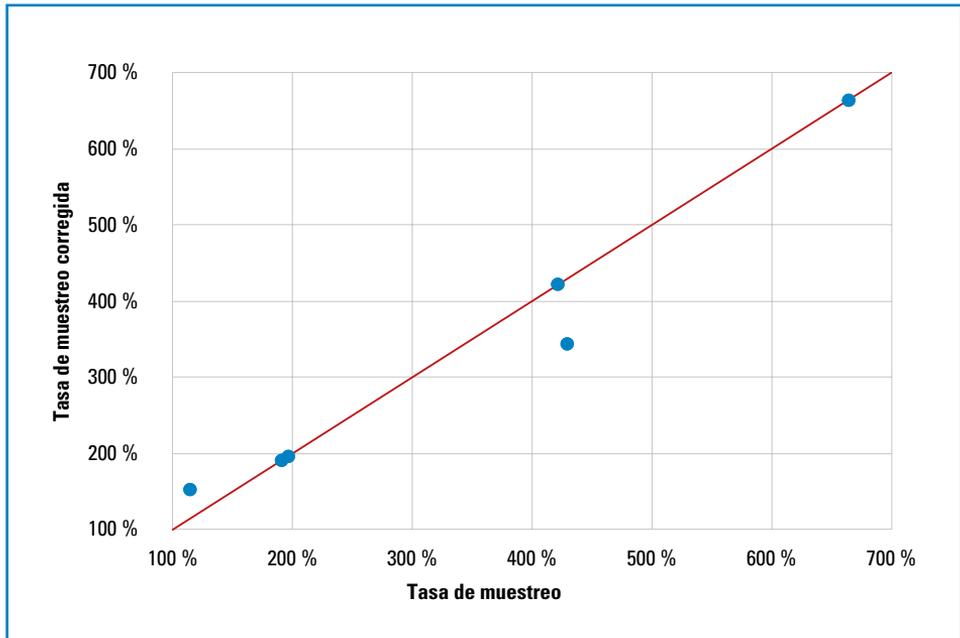


Figura 4. Representación gráfica de los valores de tasa de muestreo frente a los valores de tasa de muestreo corregidos obtenidos para todas las categorías peligro-alimento analizadas, para las tasas de muestreo inferiores al 100 % (a) y superiores al 100 % (b). La línea de color rojo representa la equivalencia entre ambos valores de tasas.

Como se puede observar en los gráficos, en aquellos valores inferiores al 100 % de tasa de muestreo (Figura 4a) se obtiene que para 12 combinaciones peligro-alimento, los valores corregidos son superiores a los no corregidos. Esto significa que el porcentaje de muestras programadas para esas combinaciones está más próximo al tomado por las comunidades autónomas. Tan solo en dos combinaciones (*Salmonella* spp. - helados, excluidos los productos en los que el proceso de fabricación o la composición del producto eliminen el riesgo de *Salmonella*, y *Salmonella* spp. - preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de 6 meses), el valor de la tasa corregida fue inferior (Figura 4a). Sin embargo, para ambas combinaciones, el número de no conformidades y notificaciones en SCIRI fue muy bajo, por lo que no representan *a priori* un riesgo significativo.

Si se tienen en cuenta aquellos valores de tasa de muestreo superiores al 100 %, se deduce que solo en una combinación (*Salmonella* spp. - semillas germinadas), el valor corregido fue superior al valor sin corregir. Para el resto de las categorías, no hubo un cambio significativo debido a la aplicación de la propuesta planteada (Figura 4b).

Adicionalmente, la prevalencia se corrige en función del tipo de procesado que reciba el alimento con el objetivo de considerar posibles disminuciones o aumentos en el riesgo que supone el par peligro-alimento. Existen diferentes estrategias para tener en cuenta el efecto del procesado:

- a) Factor de corrección por tratamiento inactivador (FCTI): tiene en cuenta la posibilidad de reducción de la presencia del peligro en el alimento debido a la manipulación o cocinado por el consumidor. La aplicación de tratamientos culinarios habituales es con frecuencia suficiente para reducir a niveles aceptables el riesgo asociado a la presencia de ciertos peligros. Por ello, cuando se trate de alimentos que se analizan crudos pero que se consumen cocinados, el valor de la prevalencia se corrige multiplicando el porcentaje obtenido por 0,5 (AESAN, 2017).
- b) Factor de corrección como consecuencia del procesado: se trata de un factor de corrección sobre la prevalencia, pero en un sentido más amplio que el FCTI. Considera el efecto del procesado no solo en la reducción del riesgo, sino que también tiene en cuenta que determinados tipos de procesado pueden dar lugar a un incremento en el número de microorganismos y, en consecuencia, en el riesgo. Tal es el caso, por ejemplo, de determinadas condiciones de almacenamiento o una re-contaminación como consecuencia de un loncheado. Por ello, corrige el valor del riesgo no solo a la baja (multiplicándolo por 0, 0,01 o 0,5, para los casos en los que el procesado elimina totalmente el riesgo, lo elimina en un 50 %, o en el 99 % de los casos, respectivamente), si no también incrementándolo para los casos en los que puede haber un crecimiento microbiano (multiplicándolo por 10, 1000 u otro valor que se ajuste al efecto) (Ross y Sumner, 2002) (Food Safety Portal, 2024).
- c) Modelos de evaluación de exposición: otra posibilidad más compleja es utilizar modelos de evaluación de exposición basados en modelos predictivos que relacionan la concentración del microorganismo en función de diferentes parámetros del proceso (temperatura de almacenamiento, tiempo, temperatura de tratamiento térmico, etc.), y que permiten estimar de manera precisa el aumento o disminución del riesgo como consecuencia del procesado y aportan un valor cuantitativo específico del conjunto microorganismo-alimento-proceso. Este enfoque es

mucho más preciso, aunque también más laborioso y depende de la existencia de datos experimentales que describan el proceso. Un ejemplo de este tipo de aplicación es la herramienta MicroHibro (Cubero-González et al., 2019) que permite evaluar cuantitativamente la evolución de los posibles microorganismos patógenos en los alimentos a lo largo de la cadena alimentaria y su impacto en la salud pública.

De las diferentes estrategias descritas, tanto la del factor de corrección como consecuencia del procesado como la de los modelos de evaluación de la exposición, requieren de la existencia de datos experimentales que relacionen de manera más o menos cuantitativa el efecto del procesado sobre el riesgo. Por ello, aunque estas estrategias son más precisas y permiten cuantificar tanto disminuciones como incrementos del riesgo, en la actualidad son difíciles de aplicar de manera general para cada caso peligro-alimento-proceso. Por ello, se recomienda la estrategia de corregir la prevalencia mediante el FCTI, y considerar en revisiones posteriores la utilización de alguna de las otras estrategias descritas en función de la disponibilidad de información.

Por último, a la hora de calcular la puntuación final del riesgo, el hecho de aplicar el FCTI hace que algunos valores finales no se correspondan con números enteros. Por tanto, se plantea la propuesta de modificación de la escala de puntuaciones de riesgo para considerar aquellos valores no enteros, tal y como se indica en la Tabla 2.

Tabla 2. Propuesta de escala semicuantitativa de intervalos de puntuación del riesgo y número de muestras asociado para la programación quinquenal

Intervalo de puntuación del riesgo	Número de muestras
1 a 2	59
>2 a 4	295
>4 a 6	590
>6 a 8	885
>8 a 10	1180
>10 a 12	1475
>12 a 14	1770
>14 a 16	2065

Conclusiones del Comité Científico

En el presente informe se ha revisado la adecuación de la metodología utilizada para la priorización del riesgo por la presencia de peligros biológicos en los alimentos, así como la programación de toma de muestras para control oficial. En vista de la información disponible y, tras una revisión y análisis de los datos recopilados más recientes, se alcanzan las siguientes conclusiones.

En primer lugar, dada su estabilidad a lo largo del tiempo, los criterios basados en el cálculo del impacto en salud (incidencia y gravedad) se consideran válidos para los peligros biológicos estudiados. No obstante, se recomienda proceder a una revisión de los mismos en el futuro en base a los estudios citados en el presente informe y valorar su posible impacto en la puntuación de riesgo final.

La propuesta relacionada con la modificación de los valores de los criterios de prevalencia afecta sensiblemente a la relación entre el número de muestras calculadas y de muestras finalmente tomadas en la programación de toma de muestras dirigidas a las comunidades autónomas. Sin embargo, dicha propuesta podría revisarse utilizando un conjunto de datos más representativo sobre vigilancia sanitaria y notificaciones en SCIRI para, en su caso, ser implementada en futuras revisiones de la programación. Asimismo, se valora positivamente la utilización del FCTI para la corrección de la puntuación asociada a la prevalencia. También es necesario señalar que los resultados mostrados están referidos a los criterios actualmente utilizados en la programación de toma de muestras, no considerándose otras variables tales como datos de consumo, tamaño de los establecimientos o capacidad laboratorial de las comunidades autónomas, entre otros.

En cuanto a la distribución de categorías de alimentos y peligros analizados, se considera adecuada. A pesar de ello, se recomienda reevaluar esta distribución considerando datos de consumo promedio de las distintas categorías de alimentos en cada una de las comunidades autónomas, de forma que el diseño de la programación de toma de muestras sea lo más balanceado posible para cada peligro biológico considerado.

Por otro lado, el procedimiento para el cálculo del número de muestras, así como los intervalos de puntuación de riesgo utilizados para los diferentes pares peligro-alimento se consideran adecuados para el fin previsto, no existiendo información bibliográfica sustancial que haga plantear una modificación de los mismos.

La conclusión final del Comité Científico es que el Documento de orientación para la programación de toma de muestras de peligros biológicos en el marco del PNCOCA 2021-2025 es adecuado, en el momento actual, para el fin previsto. No obstante, el Documento de orientación deberá actualizarse periódicamente a la luz de la experiencia de su aplicación, el avance en los conocimientos científicos, los cambios en la legislación y las directrices y herramientas sobre priorización y frecuencia de inspección basada en el riesgo que puedan desarrollarse a nivel nacional o de la Unión Europea.

Referencias

- AESAN (2017). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre la programación de los controles oficiales de peligros biológicos. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 26, pp: 57-66.
- AESAN (2024a). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Plan Nacional de Control Oficial de la Cadena Alimentaria 2021-2025. Versión 4. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/pncoca/PNCOCA_2021_2025_V4_Rev_Espana.pdf [acceso: 22-07-24].
- AESAN (2024b). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Vigilancia de Zoonosis y Agentes Zoonóticos. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subseccion/vigilancia_zoonosis.htm [acceso: 22-07-24].
- AESAN (2024c). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informes del Sistema Coordinado de Intercambio de Información (SCIRI). Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subseccion/SCIRI.htm [acceso: 22-07-24].
- ANSES (2014). Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Information des consommateurs en matière de prévention des risques biologiques liés aux aliments. Tome 1-Hié-

- rarchisation des couples danger/aliment et état des lieux des mesures d'information. Disponible en: <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2012sa0118Ra-01.pdf> [acceso: 22-07-24].
- ANSES (2020). Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Méthodologie de hiérarchisation des dangers biologiques et chimiques dans les aliments. Disponible en: <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0153Ra.pdf> [acceso: 22-07-24].
- BOE (2011). Ley 17/2011, de 5 de julio, de seguridad alimentaria y nutrición. BOE N° 160 de 6 de julio de 2011, pp: 71283-71319.
- Butler, A.J., Thomas, M.K. y Pintar, K.D. (2015). Expert elicitation as a means to attribute 28 enteric pathogens to foodborne, waterborne, animal contact, and person-to-person transmission routes in Canada. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12 (4), pp: 335-344.
- Cassini, A., Colzani, E., Pini, A., Mangen, M.-J.J., Plass, D., McDonald, S.A., Maringhini, G., van Lier, A., Haagsma, J.A., Havelaar, A.H., Kramarz, P., Kretzschmar, M.E., on behalf of the BCoDE consortium (2018). Impact of infectious diseases on population health using incidence-based disability-adjusted life years (DALYs): results from the Burden of Communicable Diseases in Europe study, European Union and European Economic countries, 2009 to 2013. *Eurosurveillance*, 23 (16), pp: 1-20.
- Cressey, P. y Lake, R. (2005). Ranking Food Safety Risks: Development of NZFSA Policy 2004-2005. Disponible en: <https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/25940-Ranking-food-safety-risks-Development-of-NZFSA-Policy-2004-2005> [acceso: 22-07-24].
- Cubero-González, S., Possas, A.M., Carrasco, E., Valero, A., Bolívar, A., Posada-Izquierdo, G.D., García-Gimeno, R.M., Zurera, G. y Pérez-Rodríguez, F. (2019). 'MicroHibro': A software tool for predictive microbiology and microbial risk assessment in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 290, pp: 226-236.
- Devleeschauwer, D., Haagsma, J.A., Angulo, F.J., Bellinger, D.C., Cole, D., Döpfer, D., Fazil, A., Fèvre, E.M., Gibb, H.J., Hald, T., Kirk, M.D., Lake, R.J., Noordhout, C.M., Mathers, C.D., McDonald, S.A., Pires, S.M., Speybroeck, N., Thomas, N.K., Torgerson, P.R., Wu, F., Havelaar, A.H. y Praet, N. (2015). Methodological Framework for World Health Organization Estimates of the Global Burden of Foodborne Disease. *PLoS One*, 10 (12): e0142498, pp: 1-20.
- ECDC (2024). Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades. Toolkit-Application to calculate DALYs. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/toolkit-application-calculate-dalys> [acceso: 22-07-24].
- EFSA (2012). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the development of a risk ranking framework on biological hazards. *EFSA Journal*, 10 (6): 2724, pp: 1-88.
- EFSA (2015). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the development of a risk ranking toolbox for EFSA BIOHAZ Panel. *EFSA Journal*, 13 (1): 3939, pp: 1-131.
- EFSA (2016). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Mapping from FoodEx2 to FoodEx1. *EFSA Supporting Publications*, EN-1056, pp: 1-13.
- FAO (2009). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of Maximum Residue Levels in food and feed. Pesticide Residues. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/012/i1216e/i1216e00.htm> [acceso: 22-07-24].
- FAO (2020). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. FAO guide to ranking food safety risks at the national level. Disponible en: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/55e68d49-205e-42b0-9b30-26e82f77591b/content> [acceso: 22-07-24].
- FAO/OMS (2006). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Food safety risk analysis. A guide for national food safety authorities. Disponible en: <https://www.fao.org/4/a0822e/a0822e.pdf> [acceso: 22-07-24].

- FAO/OMS (2012). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Multicriteria-Based Ranking for Risk Management of Foodborne Parasites. Disponible en: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/112672/9789241564700_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y [acceso: 22-07-24].
- FAO/OMS (2016). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Statistical aspects of microbiological criteria related to foods. A risk managers guide. Disponible en: <https://iris.who.int/handle/10665/249531> [acceso: 22-07-24].
- FDA (2022). Food and Drug Administration. Sampling for foodborne biological hazards, and filth-domestic and import. Disponible en: <https://www.fda.gov/media/158921/download> [acceso: 22-07-24].
- Focker, M., van der Fels-Klerx, H.J. y Lansink, O. (2018). Systematic Review of Methods to Determine the Cost-Effectiveness of Monitoring Plans for Chemical and Biological Hazards in the Life Sciences. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17, pp: 633-645.
- Focker, M., van Asselt, E.D. y van der Fels-Klerx, H.J. (2023). Designing a risk-based monitoring plan for pathogens in food: A review. *Food Control*, 143: 109319, pp: 1-10.
- Food Safety Portal (2024). Risk Ranger. Disponible en: https://foodsafetyportal.eu/riskranger/rr_riskranger.html [acceso: 22-07-24].
- Haagsma, J.A., Maertens de Noordhout, C., Polinder, S., Vos, T., Havelaar, A.H., Cassini, A., Devleeschauwer, B., Kretzschmar, M.E., Speybroeck, N. y Salomon, J.A. (2015). Assessing disability weights based on the responses of 30,660 people from four European countries. *Population Health Metrics*, 13 (1): 10, pp: 1-15.
- Havelaar, A.H., Galindo, A.V., Kurowicka, D. y Cooke, R.M. (2008). Attribution of foodborne pathogens using structured expert elicitation. *Foodborne Pathogens and Disease*, 5, pp: 649-659.
- ICMSF (2002). Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos. Microorganisms in Foods 7. *Microbiological testing in food safety management*. Nueva York. Kluwer Academic/Plenum Publisher.
- Murray, C.J., Ezzati, M., Flaxman, A.D., Lim, S., Lozano, R., Michaud, C., Naghavi, M., Salomon, J.A., Shibuya, K., Vos, T., Wikler, D. y Lopez A.D. (2012). GBD 2010: design, definitions, and metrics. *Lancet*, 380 (9859), pp: 2063-2066.
- OMS (2020). Organización Mundial de la Salud. WHO methods and data sources for global burden of disease estimates 2000-2019. Disponible en: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/gho-documents/global-health-estimates/ghe2019_daly-methods.pdf?sfvrsn=31b25009_7 [acceso: 22-07-24].
- Possas, A., Valero, A. y Pérez-Rodríguez, F. (2022). New software solutions for microbiological food safety assessment and management. *Current Opinion in Food Science*, 44: 100814, pp: 1-8.
- Ravel, A., Davidson, V.J., Ruzante, J.M. y Fazil, A. (2010). Foodborne proportion of gastrointestinal illness: Estimates from a Canadian expert elicitation survey. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7, pp: 1463-1472.
- Ross, T. y Sumner, J.L. (2002). A simple, spreadsheet-based, food safety risk assessment tool. *International Journal of Food Microbiology*, 77, pp: 39-53.
- Ruzante, J.M., Davidson, V.J., Caswell, J., Fazil, A., Cranfield, J.A.L., Henson, S.J., Anders, S.M., Schmidt, C. y Farber, J.M. (2010). A Multifactorial Risk Prioritization Framework for Foodborne Pathogens. *Risk Analysis*, 30 (5), pp: 724-742.
- Scallan, E., Hoekstra, R., Angulo, F., Tauxe, R., Widdowson, M., Roy, S., Jones, J. y Griffin, P. (2011). Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17, pp: 7-15.
- UE (2005). Reglamento (CE) N.º 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DO L 338 de 22 de diciembre de 2005, pp: 1-26.
- UE (2017). Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de marzo de 2017, relativo a los controles y otras actividades oficiales realizados para garantizar la aplicación de la legislación sobre alimentos y piensos, y de las normas sobre salud y bienestar de los animales, sanidad vegetal y productos fitosanitarios, y por el que se modifican los Reglamentos (CE) N.º 999/2001, (CE) N.º 396/2005, (CE) N.º 1069/2009, (CE)

- N° 1107/2009, (UE) N° 1151/2012, (UE) N° 652/2014, (UE) 2016/429 y (UE) 2016/2031 del Parlamento Europeo y del Consejo, los Reglamentos (CE) N° 1/2005 y (CE) N° 1099/2009 del Consejo, y las Directivas 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE y 2008/120/CE del Consejo, y por el que se derogan los Reglamentos (CE) N° 854/2004 y (CE) N° 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, las Directivas 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE y 97/78/CE del Consejo y la Decisión 92/438/CEE del Consejo (Reglamento sobre controles oficiales). DO L 95 de 7 de abril de 2017, pp: 1-142.
- Vally, H., Glass, K., Ford, L., Hall, G., Kirk, M.D., Shadbolt, C., Veitch, M., Fullerton, K.E., Musto, J. y Becker, N. (2014). Proportion of illness acquired by foodborne transmission for nine enteric pathogens in Australia: An expert elicitation. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(9), pp: 727-733.
- van Asselt, E.D., Hoffmans, Y., Hoek-van den Hil, E.F. y van der Fels-Klerx, H.J. (2021). Methods to perform risk-based inspections of food companies. *Journal of Food Science*, 86, pp: 5078-5086.
- van der Fels-Klerx, H.J., van Asselt, E.D., Raley, M., Poulsen, M., Korsgaard, H., Bredsdorff, L., Nauta, M., Flari, V., d'Agostino, M., Coles, D. y Frewer, L. (2015). Critical review of methodology and application of risk ranking for prioritisation of food and feed related issues, on the basis of the size of anticipated health impact. *EFSA Supporting Publications*, EN-710, pp: 1-106.
- van der Fels-Klerx, H.J., van Asselt, E.D., Raley, M., Poulsen, M., Korsgaard, H., Bredsdorff, L., Nauta, M., d'Agostino, M., Coles, D., Marvin, H.J.P. y Frewer, L. (2018). Critical review of methods for risk ranking of food-related hazards, based on risks for human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58, pp: 178-193.
- Zwietering, M.H., Gorris, L.G.M. y Farber, J.M. (2015). Operationalising a performance objective with a microbiological criterion using a risk-based approach. *Food Control*, 58, pp: 33-42.



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



agencia
española de
seguridad
alimentaria y
nutrición