

## **PVI-01: “Ricerca di larve di *Trichinella* nelle carni destinate al consumo umano mediante digestione artificiale secondo il Regolamento UE 2020/1478 e l’Allegato III del Reg UE 2015/1375”**

### **Procedura**

#### **Oggetti di PVI**

Descrizione. Il Laboratorio di Riferenza per i Parassiti dell’Unione Europea (EURLP), in qualità di Laboratorio Nazionale di Riferenza per la *Trichinella* (LNRT), fornisce, ai laboratori che lo richiedano, campioni di carne macinata contenenti o no larve muscolari di *Trichinella spiralis*. Tale materiale può essere utilizzato per la formazione del personale, per la validazione dei metodi di prova, per la conduzione degli audit di terza parte e per le Prove Valutative Interlaboratorio (PVI) per la ricerca di larve di *Trichinella*. I campioni possono essere, a richiesta, di carne suina o equina del peso di 35 o 100g.

Preparazione dei campioni. Per la preparazione dei campioni vengono utilizzate larve vive di *Trichinella spiralis*, libere od ancora all’interno della capsula integra, ottenute mediante digestione artificiale peptica di carcasse di topi infettati sperimentalmente. La digestione peptica viene eseguita seguendo una versione modificata del protocollo descritto nella norma ISO 18745:2015 (inclusa nel Reg. EU 2020/1478). Le larve raccolte vengono poste in una capsula Petri, controllate al microscopio da dissezione e trasferite con una micropipetta su di un vetrino da orologio, quindi contate da due operatori differenti. I campioni vengono preparati a partire da tessuto muscolare macinato privo di grasso e tendini. Nelle aliquote di carne macinata (da 35g o da 100g), alle quali viene data una forma tondeggiante (polpetta), viene preparato un incavo al centro del quale vengono trasferite le larve lavando delicatamente il vetrino con circa 150 µL di soluzione salina. Il vetrino viene quindi controllato al microscopio per assicurarsi che non vi siano rimaste larve adese. L’incavo della polpetta viene quindi chiuso. Il campione così preparato viene inserito in una busta, sigillato sotto vuoto, ed etichettato con un codice numerico progressivo.

Omogeneità. Poiché i campioni per la ricerca di larve di *Trichinella* mediante digestione artificiale sono preparati individualmente, l’omogeneità è assicurata dal fatto che il numero di parassiti presenti nella matrice viene controllato allo stereo-microscopio da due operatori.

Allestimento dell’invio contenente i campioni. Per preservare la freschezza della carne e la sopravvivenza delle larve, ogni campione viene inserito in una busta sigillata sotto vuoto. Le buste contenenti i singoli campioni vengono marcate con un codice identificativo univoco; il codice utilizzato non fa riferimento né al livello di contaminazione del campione, né all’identità del laboratorio destinatario. Tutte le buste, contenenti i campioni destinati ad uno stesso laboratorio, vengono inserite in una busta più grande, anch’essa sigillata sottovuoto. La busta grande viene posta in un contenitore di polistirolo e cartone. Sul fondo del contenitore vengono poste mattonelle refrigeranti in numero adeguato a garantire il mantenimento di una temperatura compresa tra i 4 ed i 15°C all’interno del pacco. Un foglio di cartone ondulato viene posto sotto i campioni di prova per impedirne il contatto diretto con le mattonelle refrigeranti. Il contenitore viene quindi riempito con materiale isolante per impedire lo spostamento dei campioni durante la spedizione.

Controllo della Qualità e della Stabilità. Sulla base di esperimenti appositamente effettuati dall’EURLP su oggetti di PVI conservati a 4-15°C nella loro busta sottovuoto, si è potuto stabilire che le larve prive di

capsula, restano vitali per 5 giorni dalla data di preparazione mentre quelle con capsula integra restano vitali per 20 giorni.

### **Criteri d'interpretazione dei risultati**

Il Regolamento UE 2020/1478 rimanda alla norma ISO 18745:2015 per la descrizione dei metodi applicabili ai controlli ufficiali relativi alla presenza di larve di *Trichinella* nelle carni. Sulla base di tale norma ISO, i risultati della digestione dei campioni di tessuto muscolare vengono espressi come “positivo” (presenza di una o più larve di nematodi) o “negativo” (assenza di larve di nematodi).

### **Rapporto di PVI**

L'EURLP effettua una valutazione generale della PVI basandosi esclusivamente sul risultato qualitativo, in accordo alla norma ISO 18745:2015, inclusa nel Regolamento UE 2020/1478. Il Rapporto individuale di PVI è disponibile al partecipante dopo 7 giorni lavorativi dalla scadenza indicata per l'invio dei risultati. L'EURLP inoltre, al fine di permettere ai laboratori che eseguono il test di conoscere il livello di sensibilità con cui operano, fornisce, in allegato al Rapporto Individuale di PVI, uno schema riassuntivo nel quale sono riportati il numero di larve presenti in ogni campione, il numero di larve reperite dal laboratorio, e la differenza ( $\Delta$ ) tra l'atteso e l'osservato.

Infine, il Rapporto Finale di PVI, che mostra i risultati ottenuti da tutti i partecipanti allo stesso circuito, è disponibile nell'area riservata del sito web dell'EURLP entro 20 giorni lavorativi dalla scadenza indicata per l'invio dei risultati.

Per garantire la riservatezza, il rapporto individuale di PVI è visibile solo al laboratorio partecipante, e nel rapporto finale di PVI i partecipanti sono identificati da codici alfanumerici.

I rapporti di PVI sono conservati dall'EURLP per 10 anni.

Per informazioni o problemi relativi all'accesso al sito web, contattare:

Dr. Gianluca Marucci

e-mail: [gianluca.marucci@iss.it](mailto:gianluca.marucci@iss.it)