

revista del  
**Comité**  
**Científico** de la aesan

**Nº 7**

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



Revista del Comité Científico de la AESAN

Madrid, 2008



revista del  
**Comité**  
**Científico** de la aesan

**Nº 7**

## Nota del Comité Editorial

Los Informes que se incluyen a continuación son el resultado de las consultas que la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición 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 se 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.

## Revista del Comité Científico de AESAN

### Consejo Editorial

#### Presidente de Honor

Bernat Soria

#### Editores Jefe

Félix Lobo

José Ignacio Arranz Recio

#### Secretario del Comité Científico y editor

Jesús Campos Amado

#### Coeditores

Belén Crespo Sánchez-Eznarriaga

Rosa Sanchidrián Fernández

#### Consejo Editorial Científico

##### Presidente del Comité Científico

Andreu Palou Oliver

##### Vicepresidente del Comité Científico

Juan José Badiola Diez

Arturo Anadón Navarro

Margarita Arboix Arzo

Albert Bosch Navarro

Juan Francisco Cacho Palomar

Francesc Centrich Escarpenter

M<sup>a</sup> Luisa García López

Manuela Juárez Iglesias

Manuel Martín Esteban

Susana Monereo Megías

Juan Antonio Ordóñez Pereda

Andrés Otero Carballeira

Fernando Rodríguez Artalejo

Eliás Rodríguez Ferri

Jose Manuel Sánchez-Vizcaino Rodriguez

Vicente Sanchis Almenar

Gregorio Varela Moreiras

Pablo Vera Vera

Gonzalo Zurera Cosano

#### Coordinadores de la edición

Vicente Calderón Pascual

Elia Teso Canales

#### Responsables de Comunicación AESAN

Juan Julián García Gómez

Héctor Alonso

AESAN: Alcalá, 56. 28071. Madrid

correo electrónico: comunicacionAesan@msc.es

#### Diseño y maquetación

Montserrat Gómez

#### Imprime

Artegraf

NIPO: 355-08-005-9

ISSN: 1885-6586

D.L.: M-27353-2005

## Índice

Prólogo	7
<b>Informes del Comité Científico de la AESAN</b>	
Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la evaluación de riesgos para la salud de la ingesta de los aminoácidos D-Glicina y ácido L-Aspártico solicitado por la Subdirección General de Gestión de Riesgos Alimentarios	9
Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación con la aplicación de luz UVC para la inducción de compuestos bioactivos en uvas	15
Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación con una petición planteada por el Director Ejecutivo de la Agencia acerca del establecimiento de un criterio microbiológico para <i>Salmonella</i> en los huevos destinados al consumo directo	31
<b>Colaboraciones</b>	
Envasado a vacío y en atmósfera modificada y utilización potencial de los envases activos e inteligentes en la carne de aves M <sup>a</sup> Luisa García López	45
Comprobación de la efectividad de los métodos de higienización de la carne de ave y derivados mediante modelos temáticos y su repercusión en la Evaluación Cuantitativa del Riesgo Microbiano Gonzalo Zurera Cosano	55



Día a día, los acontecimientos ponen de manifiesto la importancia que todos los países conceden a la Seguridad Alimentaria y la Nutrición.

Este nuevo número de la revista del Comité Científico de la AESAN incluye informes y colaboraciones de interés general en materia de seguridad alimentaria.

En primer lugar, se trata el tema de los aminoácidos como suplementos dietéticos dado que en los últimos años su consumo se ha incrementado notablemente, tanto en España como en otros países desarrollados, coincidiendo con un aumento significativo de la obesidad en la población. El objetivo principal del consumo de los mismos parece ser la modulación del peso corporal y el aumento del rendimiento físico. A este respecto, la AESAN promueve campañas de promoción de la alimentación y la actividad física saludables para combatir la llamada epidemia del siglo XXI. El Comité Científico ha llevado a cabo la evaluación del riesgo del consumo de determinados aminoácidos en cantidades adicionales a las de la dieta para anticipar posibles consecuencias adversas.

Además, la creciente preocupación por la salud y el bienestar lleva al estudio del modo de mantener, incluso inducir, la presencia de ciertos compuestos bioactivos en los alimentos que han demostrado tener efectos beneficiosos para la salud, como es el caso de los estilbenos en la uva.

Sin embargo, no podemos olvidarnos de ciertos riesgos clásicos que siguen preocupando a todos los sectores relacionados con la salud pública como lo es la salmonelosis, que constituye una de las enfermedades de transmisión alimentaria de mayor importancia, tanto a nivel nacional como europeo y mundial, y que conlleva importantes consecuencias económicas, sociales y sanitarias.

En ocasiones, la seguridad alimentaria se une a las demandas del mercado y a las nuevas tecnologías que, hoy en día, permiten que los envases alimentarios ofrezcan al consumidor no sólo la información necesaria sobre el alimento, sino también datos acerca de la seguridad del mismo. Además, a menudo permiten aumentar la vida útil de los alimentos y favorecen la puesta en el mercado de alimentos listos para su consumo. Por ello, se hace en esta revista una revisión de los diferentes tipos de envasados, sus características y usos.

Por último, queremos incluir una colaboración acerca de la efectividad de métodos de higienización mediante modelos matemáticos y su repercusión en la Evaluación Cuantitativa del Riesgo Microbiano.

José Ignacio Arranz Recio

*Director Ejecutivo de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición*



# Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la evaluación de riesgos para la salud de la ingesta de los aminoácidos D-Glicina y ácido L-Aspártico solicitado por la Subdirección General de Gestión de Riesgos Alimentarios

## Miembros del Comité Científico

Andreu Palou Oliver, Juan José Badiola Díez, Arturo Anadón Navarro, Margarita Arboix Arzo, Albert Bosch Navarro, Juan Francisco Cacho Palomar, Francesc Centrich Escarpenter, M<sup>a</sup> Luisa García López, Manuela Juárez Iglesias, Manuel Martín Esteban, Susana Monereo Megias, Juan Antonio Ordóñez Pereda, Andrés Otero Carballeira, Fernando Rodríguez Artalejo, Elías Rodríguez Ferri, José Manuel Sánchez-Vizcaíno Rodríguez, Vicente Sanchis Almenar, Gregorio Varela Moreiras, Pablo Vera Vera, Gonzalo Zurera Cosano

## Secretario

Jesús Campos Amado

Número de referencia: AESAN-2007-005

Documento aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 19 de septiembre de 2007

## Grupo de Trabajo

Andreu Palou Oliver  
Josefa Rubio Mañas (AESAN)

## Resumen

Para determinar el riesgo y caracterizar los efectos adversos potenciales asociados a la exposición de los humanos a un agente es necesario disponer de una base científica. Actualmente la determinación de la seguridad para los aminoácidos está condicionada a la deficiencia de información específica, particularmente datos experimentales o clínicos relacionados con la estimación de los efectos adversos y los principios científicos para extrapolar los datos a la población (Hayashi, 2003).

No existe evidencia que avale la seguridad de estos dos aminoácidos al ser suministrados a humanos en forma de suplementos. Los datos disponibles en humanos son muy limitados debido a la escasez de estudios de toxicidad de estos productos y no se puede descartar la aparición de consecuencias adversas tras el consumo de suplementos durante largo tiempo (Garlick, 2004).

## Palabras clave

Riesgos, aminoácidos, glicina, ácido aspártico.

**Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency For Food Safety and Nutrition (AESAN) to assess the health risk associated with the intake of D-Glycine and L-Aspartic acid in response to a request presented by the Subdirección General de Gestión de Riesgos Alimentarios.**

## Abstract

To assess the risks and characterize the potential adverse effects associated with human exposure to an agent, scientific information is necessary. At present the execution of risk assessment is hindered

by deficiencies in scientific information, particularly experimental or clinical data, related to the estimation of adverse effects and the scientific principles to extrapolate data to population (Hayashi, 2003).

There is little scientific evidence in literature which supports the safety of these two amino acids when taken by humans as amino acid supplements. The data relevant to humans is very limited, because of the limited toxicity studies of these amino acids, so unanticipated adverse consequences of consuming large amounts and for a long time cannot be ruled out (Garlick, 2004).

### **Key Words**

Risks, amino acids, glycine, aspartic acid.

## Introducción

La D-Glicina y el ácido L-Aspártico son dos aminoácidos no esenciales, es decir, pueden sintetizarse en el organismo utilizando diferentes rutas metabólicas. Por ello no se hacen recomendaciones dietéticas de ellos, sólo de los esenciales, que son los que no podemos sintetizar.

Como cualquier otro componente natural de los alimentos, los aminoácidos se suponen no tóxicos en los márgenes en que aparecen en la dieta. Se ha propuesto su empleo como suplementos dietéticos para una variedad de usos, como aumentar el rendimiento del ejercicio físico o con pretendidos efectos farmacológicos. No se recomienda en general la ingesta de grandes cantidades de aminoácidos individuales porque es necesaria mucha más información para poder asegurar que no aparecen efectos adversos (Hayashi, 2003).

Con respecto a la ingesta de aminoácidos individuales como suplementos dietéticos en cantidades excesivas en relación con las absorbidas a partir de la proteína de la dieta, no se han realizado suficientes estudios en humanos. Tres comités han considerado la seguridad de los aminoácidos:

- Joint WHO/FAO Expert Committee on Food Additives (FAO/WHO, 1988).
- Life Sciences Research Office (Anderson, 1992).
- Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine (FNB/Institute of Medicine, 2002).

### Ácido L-Aspártico

Se conoce que el exceso de ácido L-Aspártico puede originar neurotoxicidad en animales, en concreto lesiones hipotalámicas en ratas causadas por el exceso de ácido L-Aspártico (Schnainker y Olney, 1974), pero en humanos no se han comunicado efectos adversos (De Haan et al., 1985). La Food and Nutrition Board (FNB/Institute of Medicine, 2002) ha notificado que no se han encontrado efectos adversos al administrar suplementos de unos ocho gramos al día además de los tres que suele contener la dieta.

### D-Glicina

A pesar de producir efectos neurotóxicos e hipernatremia en animales (Wang et al., 1985), no se ha señalado la aparición en humanos de efectos adversos tras la administración de más de 31 gramos al día, aunque se debe considerar que los únicos datos disponibles al respecto son antiguos (Rose et al., 1955). Sí se ha visto, cuando la Glicina se utiliza en la irrigación durante la resección transuretral de próstata, náuseas y pérdida de visión transitoria y alteraciones en el Sistema Nervioso Central (Mizutani et al., 1990).

## Estudios necesarios

Los efectos potencialmente adversos asociados con la ingesta de cantidades elevadas de aminoácidos se pueden considerar en tres categorías (Hayashi, 2003):

- Toxicidad específica e inherente al aminoácido.
- Antagonismo entre aminoácidos: efectos adversos debidos a la competencia entre aminoácidos pertenecientes al mismo grupo químico.
- Desequilibrio entre los aminoácidos: como retraso en el crecimiento de animales que han consu-

mido cantidades excesivas de algún aminoácido, efectos adversos causados por la alteración del patrón de la dieta.

Para determinar la seguridad de un aminoácido sería conveniente el estudio a largo plazo de los efectos metabólicos y fisiológicos y concretar los subgrupos potencialmente de mayor riesgo para los efectos adversos debidos al consumo de suplementos de aminoácidos. Además de los estudios de seguridad, se deben realizar estudios en humanos mediante ensayos clínicos que podrían proporcionar datos para determinar las cantidades de aminoácidos que se pueden considerar tolerables (Hayashi, 2003).

Por otra parte, para evaluar la seguridad es necesario que los aminoácidos tengan especificaciones que incluyan el porcentaje de impurezas de los productos a considerar (SCF, 2001) (UE, 2001).

## Conclusión

En general los escasos estudios realizados en humanos con los suplementos de aminoácidos no permiten determinar la seguridad del consumo de cantidades suplementarias a las de la dieta y a largo plazo de los mismos, ni anticipar consecuencias adversas.

La Federation of American Societies for Experimental Biology para la Food and Drugs Administration (FDA/FASEB, 1993) señala que el consumo de aminoácidos en forma de suplementos dietéticos puede suponer un riesgo para varios grupos de población, como mujeres en edad fértil, niños, adolescentes, ancianos y personas enfermas.

No hay suficientes datos que permitan establecer cuáles son los niveles máximos tolerables de ingesta diaria para estos suplementos de aminoácidos.

## Referencias

- Anderson, S.A. y Raiten, D.J. (1992). Safety of Amino Acids Used as Dietary Supplements. Prepared for Food and Drug Administration by Life Sciences Research Office. Federation of American Societies for experimental Biology. Bethesda, MD.
- De Haan, A., Van Foom, J.E. y Westra, H.G. (1985). Effects of potassium + magnesium – aspartate on the muscle metabolism and force development during short intensive static exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 6, pp: 44-49.
- FAO/WHO (1998). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. WHO Food Additive Series nº 22. ,New York. Cambridge. University Press.
- FDA/FASEB (1993). Food and Drug Administration. Center for food Safety and Applied Nutrition. Illnesses and Injuries Associated with the Use of Selected Dietary Supplements. Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/ds-ill.html> [acceso 17-4-2007]
- FNB/Institute of Medicine (2002). Food and Nutrition Board/Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids (Macronutrients): Preliminary Report. Institute of Medicine. Washington, D.C. National Academy Press.
- Garlick, P.J. (2004). The Nature of Human Hazards Associated with Excessive Intake of Amino Acids. *The Journal of Nutrition*, 134, pp: 1633S-1639S.
- Hayasi, Y. (2003). Application of the Concepts of Risk Assessment to the study of Amino Acid Supplements. *The Journal of Nutrition*, 133, pp: 2021S-2024S.

- Mizutani, A.R., Parker, J., Katz, J. y Schmidt, J. (1990). Visual disturbances, serum glycine levels, and transurethral resection of the prostate. *Journal of Urology*, 144, pp: 697-699.
- Rose, W.C., Wixom, R.L., Lockhart, H.B. y Lambert, G.F. (1955). The amino acid requirements of man. XV. The valine requirement; summary and final observations. *Journal of Biological Chemistry*, 217, pp: 987-995.
- Schnainker, B. y Olney, J.W. (1974). Glutamate – type hypothalamic –pituitary syndrome in mice treated with aspartate or cysteate in infancy. *Journal of Neural Transmission*, 35, pp: 207-215.
- SCF (2001). Scientific Committee on Food. Guidance on submissions for food safety evaluation of sources of nutrients or of other ingredients proposed for use in the manufacture of foods. SCF/CS/ADD/NUT/21 Final 12 July 2001.
- UE (2001). Directiva 2001/15/CE de la Comisión, de 15 de febrero de 2001, sobre sustancias que pueden añadirse para fines de nutrición específicos en alimentos destinados a una alimentación especial. DO L 52 de 30 de abril de 2001, pp: 19-25.
- Wang, J.M.L., Wong, K.C., Creel, D.J., Clark, W.M. y Sahahangian, S. (1985). Effect of glycine on hemodynamic responses and visual evoked potentials in the dog. *Anaesthesia Analgesia*, 64, pp: 1071-1077.



# Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación con la aplicación de luz UVC para la inducción de compuestos bioactivos en uvas

## Miembros del Comité Científico

Andreu Palou Oliver, Juan José Badiola Diez, Arturo Anadón Navarro, Margarita Arboix Arzo, Albert Bosch Navarro, Juan Francisco Cacho Palomar, Francesc Centrich Escarpenter, M<sup>a</sup> Luisa García López, Manuela Juárez Iglesias, Manuel Martín Esteban, Susana Monereo Megías, Juan Antonio Ordóñez Pereda, Andrés Otero Carballeira, Fernando Rodríguez Artalejo, Elías Rodríguez Ferri, José Manuel Sánchez-Vizcaino Rodríguez, Vicente Sanchis Almenar, Gregorio Varela Moreiras, Pablo Vera Vera, Gonzalo Zurera Cosano

## Secretario

Jesús Campos Amado

Número de referencia: AESAN-2007-009

Documento aprobado por el Comité Científico en sesión plenaria de 14 de noviembre de 2007

## Grupo de Trabajo

Andreu Palou Oliver  
Arturo Anadón Navarro  
Vicente Calderón Pascual (AESAN)  
Josefa Rubio Mañas (AESAN)  
Marta Barea Sánchez (AESAN)  
Juan Carlos Espin (Consultor externo)  
Francisco A. Tomás-Barberán (Consultor externo)

## Resumen

Los polifenoles se encuentran dentro de los constituyentes bioactivos no nutricionales de los alimentos. Constituyen un grupo muy numeroso de sustancias que incluyen familias de compuestos con estructuras diversas, desde algunas relativamente simples, como los derivados de ácidos fenólicos, hasta moléculas poliméricas, como los taninos hidrolizables y condensados.

La principal de las funciones de los polifenoles está relacionada con la defensa de la planta frente al ataque de patógenos. La resistencia puede ser debida a la acción bactericida-bacteriostática o antifúngica del propio polifenol, o bien por la generación de productos de oxidación de éstos (quinonas y melaninas, de reconocido carácter antimicrobiano).

En lo que respecta al efecto de los polifenoles en humanos, numerosos estudios indican el efecto de los polifenoles frente a diversas enfermedades como las cardiovasculares, diversos tipos de cáncer y enfermedades neurodegenerativas. El mejor aval científico en la actividad de los polifenoles viene dado con el estrés oxidativo y las enfermedades cardiovasculares.

Los estudios de toxicidad de los polifenoles más representativos de los concentrados de uva, resveratrol y catequinas (prociandinas), realizados en animales y humanos, han dado como resultado la ausencia de efectos adversos tanto a dosis moderadas como muy altas.

El contenido de polifenoles en frutas, hortalizas y sus derivados (zumos, vino, confituras, etc.) se ve afectado por diversos factores agronómicos, genéticos, postcosecha y relativos al procesado. El uso de la luz UVC es un procedimiento muy estudiado para inducir la producción de estilbenos en la uva y preservar la calidad de ésta.

El proceso evaluado está basado en tecnologías y procesos ya utilizados en la industria alimentaria (lámparas germicidas). En este sentido, la aplicación de la luz UVC como tecnología para la inducción de compuestos bioactivos de uva recolectada puede aumentar el contenido en fitoalexinas y estilbenos, fundamentalmente el resveratrol.

En ningún estudio realizado se ha documentado la presencia de otros metabolitos en uva como consecuencia del tratamiento con UVC, a excepción de los estilbenos. Así mismo, no se ha documentado evidencia científica que avale la presencia de efectos adversos en animales tras el empleo de resveratrol.

### Palabras clave

Compuestos bioactivos, estilbenos, luz ultravioleta, polifenoles, resveratrol, uva, UVC.

### Report of the Scientific Panel of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) in relation to the use of UVC light for stimulating production of bioactive compounds in grapes.

#### Abstract

Polyphenols are a type of non-nutritive bioactive compound found in foods. They comprise a large group of substances that include families of differently-structured compounds; some, such as phenolic acid derivatives, are relatively simple, whilst others, such as hydrolysable and condensed tannins, are polymer molecules.

The primary function of polyphenols has to do with defending the plant against attacking pathogens. The resistance may be due to the bactericidal-bacteriostatic or antifungal properties of the polyphenols themselves, or to the oxidation products that they generate (quinones and melanines, recognised antimicrobial agents).

Regarding the effect of polyphenols in humans, numerous studies indicate that polyphenols have an effect on various illnesses such as cardiovascular diseases, different types of cancer, and neurodegenerative diseases. The best scientific evidence of polyphenol activity is seen in cases of oxidative stress and cardiovascular diseases.

Toxicity studies of the polyphenols most commonly found in grape concentrate, resveratrol and catequines (procyanidines), performed in animals and in humans, have shown no adverse results whether with moderate or with very high doses.

Polyphenol content in fruits, vegetables and their derivatives (juices, wine, preserves, etc.) is affected by various agronomic, genetic, post-harvest and processing factors. The use of UVC light for stimulating the production of stilbenes in grapes and preserving their quality has been thoroughly studied.

The assessed procedure is based on technologies and procedures currently in use in the food industry (germicidal lamps). In this way, irradiation with UV-C light as a technology to induce production of bioactive compounds in harvested grapes can increase content of phytoalexins and stilbenes, mainly resveratrol.

Apart from stilbenes, no other grape metabolites resulting from UVC treatment have had their presence documented in a study. Furthermore, no documented scientific evidence shows that use of resveratrol causes adverse effects on animals.

#### Key Words

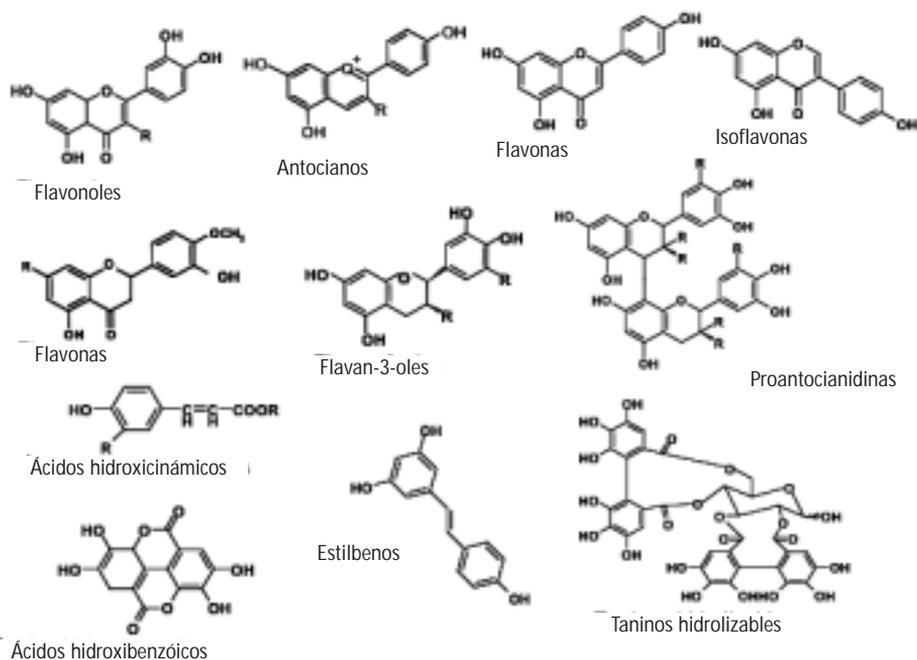
Bioactive compounds, stilbenes, ultraviolet light, polyphenols, resveratrol, grape, UVC.

## Introducción

Los efectos que ejercen algunos alimentos sobre la salud van más allá de los que cabría esperar por su contenido en nutrientes. Se ha sugerido que las propiedades adicionales se deban a los metabolitos secundarios que contienen estos alimentos (polifenoles, derivados azufrados, terpenoides, etc.). La propiedad antioxidante es la que ha recibido más interés, ya que los procesos oxidativos son el origen de muchas enfermedades, como son las cardiovasculares, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas. El consumo de antioxidantes, abundantes en los alimentos de origen vegetal, ayuda a disminuir la incidencia y virulencia de dichas enfermedades.

Los efectos adicionales sólo tienen reflejo en la fisiología cuando forman parte de un hábito alimentario que hace que se ingieran estas sustancias durante un largo periodo de tiempo y cuando los síntomas de la enfermedad que ayudan a combatir todavía no han aparecido (Dragsted et al., 1993). Es decir, ejercen una actividad preventiva y no curativa. Esto se debe a que se trata de moléculas con relativamente baja actividad biológica, sobre todo cuando se comparan con fármacos, lo que dificulta considerablemente probar su actividad en experimentos realizados durante periodos limitados de tiempo, como es el caso de la mayoría de los farmacológicos. Para estudiar esta actividad, que sólo se hace evidente a largo plazo, es necesario recurrir a estudios epidemiológicos.

Dentro de los constituyentes bioactivos no nutricionales de los alimentos se encuentran los polifenoles. Constituyen un grupo muy numeroso de sustancias que incluyen familias de compuestos con estructuras diversas (Figura 1), desde algunas relativamente simples, como los derivados de ácidos fenólicos, hasta moléculas poliméricas, como los taninos hidrolizables y condensados.



**Figura 1.** Principales familias de polifenoles de alimentos

## Polifenoles

Los polifenoles pueden ser divididos en varios subgrupos atendiendo a su estructura básica.

- Los flavonoides (más de 5.000 compuestos), incluyen a las antocianinas, los flavonoles y flavonas, las flavanonas, chalconas y dihidrochalconas, las isoflavonas y los flavan-3-oles.
- Los fenil propanoides que incluye a los derivados de ácidos hidroxicinámicos (cafeico, ferúlico, sinápico, p-cumárico).
- Los estilbenoides (especialmente resveratrol y piceatanol).
- Los derivados del benzoico (ácido gálico y elágico, etc.).

La principal de las funciones de los polifenoles está relacionada con la defensa de la planta frente al ataque de patógenos. La resistencia puede ser debida a la acción bactericida-bacteriostática o antifúngica del propio polifenol, o bien por la generación de productos de oxidación de éstos (quinonas y melaninas, de reconocido carácter antimicrobiano). Existen algunos metabolitos secundarios de plantas, denominados fitoalexinas, que se inducen específicamente ante la respuesta de un estrés, como el causado por los patógenos.

Atendiendo al número de estudios realizados relativos a su actividad biológica o a su contenido en la dieta, los polifenoles más relevantes son los flavonoles (derivados de la quercetina; presentes en la mayoría de las frutas), las procianidinas (uva, cacao), catequinas (té), las isoflavonas (soja), los estilbenos (uva, vino), el hidroxitirosol (aceite de oliva virgen) y el ácido elágico (frutas del bosque, nueces, granada).

### 1. Efecto de los polifenoles en humanos

Numerosos estudios indican el efecto de los polifenoles frente a diversas enfermedades como las cardiovasculares, diversos tipos de cáncer y enfermedades neurodegenerativas (Williamson y Manach, 2005). El mejor aval científico en la actividad de los polifenoles viene dado con el estrés oxidativo y las enfermedades cardiovasculares.

#### 1.1 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se produce cuando hay un desequilibrio entre la producción de compuestos reactivos y los antioxidantes. Durante el estrés oxidativo los compuestos reactivos pueden agredir a las estructuras celulares produciendo un daño. Como resultado se puede producir una adaptación de las células (o del organismo) por una sobre-expresión de los sistemas de defensa; un daño celular; o bien, la muerte celular.

Los compuestos o especies reactivas en general y, particularmente, los radicales libres, están implicados en un gran número de enfermedades como son el cáncer, la enfermedad de Alzheimer, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus, infertilidad masculina, enfermedades inflamatorias, enfermedades renales, cataratas, enfermedades hepáticas, enfermedades infecciosas (VIH), enfermedades respiratorias y el proceso de envejecimiento celular en general (Chowienczyk et al., 2000) (Halliwell, 2000) (Halliwell, 2001) (Halliwell, 2002) (Sohal et al., 2002) (Galli et al., 2002).

## 1.2 Enfermedades cardiovasculares

Son numerosas las vías por las cuales los polifenoles podrían mejorar la función endotelial, produciendo un efecto neto vasodilatador-hipotensivo y contribuyendo a regular la agregación plaquetaria:

- Aumento de NO: inducción de eNOS, iNOS.
- Aumento de prostaciclina (vasodilatador).
- Mantenimiento del correcto balance de citoquinas.
- Inhibición de moléculas de adhesión.
- Disminución de endotelina (vasoconstrictor).
- Disminución del factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF).
- Inhibición de metaloproteasas (MMPs), etc.

Se ha constatado el papel preventivo para la salud cardiovascular de algunos alimentos debido a la presencia de ciertos compuestos, como la uva y sus derivados, por su presencia en procianidinas y resveratrol (Lekakis et al., 2005) (Marfella et al., 2006).

## 2. Resveratrol

El resveratrol (3,5,4'-*trans*-trihidroxiestilbeno) fue aislado por primera vez de las raíces del heléboro (*Veratrum grandiflorum* O. Loes) en 1940 (Takaoka, 1940), y después, en 1963, de las raíces de *Polygonum cuspidatum* (Nonomura et al., 1963). Otras fuentes de resveratrol menos significativas se encuentran en el cacahuete (Sobolev y Cole, 1999), o en algunas bayas del género *Vaccinium* (arándanos) (Rimando et al., 2004).

El resveratrol proviene en muchos casos de extractos de *Vitis vinifera* y en los países asiáticos (especialmente China y Malasia) ha sido extraído y purificado a partir de la raíz del *Polygonum cuspidatum*, un arbusto originario de Asia. Actualmente existen muchos preparados que contienen resveratrol, comercializados en todo el mundo. En España se fabrica y se comercializa por varios elaboradores de complementos alimenticios.

Se ha descrito que el resveratrol podría prevenir o disminuir el riesgo de un amplio rango de enfermedades, incluyendo el cáncer (Jang et al., 1997) (Asensi et al., 2002), las enfermedades cardiovasculares y daños isquémicos (Sinha et al., 2002) (Wang et al., 2002) (Bradamante et al., 2004) así como aumentar la resistencia a situaciones de estrés y prolongar la vida media de varios organismos, desde levaduras (Howitz et al., 2003) hasta peces (Valenzano et al., 2006) y ratones (Baur et al., 2006).

El resveratrol se encuentra en Fase I y II de ensayos clínicos como preventivo de cáncer. Un estudio reciente de Fase I en humanos ensayó resveratrol sin encontrar efectos adversos (Boocock et al., 2006).

### 2.1 Biodisponibilidad y metabolismo del resveratrol

El resveratrol presenta una absorción alta, alcanza varios órganos y se metaboliza dando lugar principalmente a derivados glucurónidos y sulfatos. Por otro lado se ha atribuido un papel significativo a la flora colónica en la producción del metabolito dihidroresveratrol (Walle et al., 2004).

El resveratrol alcanza picos máximos de concentración en plasma aproximadamente tras 30 minutos de la ingesta, siendo los glucurónidos y sulfatos, cuya concentración varía en función de la dosis

administrada, los mayoritarios en plasma (Wenzel y Somoza, 2005) (Marier et al., 2002). La concentración del precursor ingerido (aglicona) en plasma depende, hasta cierto punto, de la dosis administrada, pero nunca alcanza valores mayores de 7  $\mu\text{M}$  en ratas (Marier et al., 2002), y presenta una vida media relativamente corta, de 8 a 14 minutos (Marier et al., 2002) (Asensi et al., 2002), lo que sugiere un intenso metabolismo presistémico fruto de la acción de enzimas detoxificantes de Fase II (Walle et al., 2004), apoyando el hecho de que a mayor dosis administrada sí se encuentre mayor concentración de derivados en plasma (pero no de aglicona).

La circulación enterohepática del resveratrol únicamente se ha descrito en ratas (Marier et al., 2002), no se ha podido establecer este punto en el hombre, aunque se ha sugerido que implica una re-entrada de resveratrol aglicona y posterior conjugación (Goldberg et al. 2003) (Walle et al., 2004).

Como en el caso de la mayoría de polifenoles, las formas conjugadas (glucurónidos, sulfatos, metilglucurónidos, etc.) son, con diferencia, las más abundantes en la circulación sistémica. El hecho de que se haya descrito que la actividad *in vivo* sea a veces mayor que la descrita *in vitro* sugiere que alguna forma conjugada, generada *in vivo*, es más potente que el precursor (aglicona) ingerido (Casper et al., 1999). El análisis de los metabolitos de plasma después de administrarse oralmente no ha podido ser completamente detallado excepto en la presencia de derivados glucuronidos y sulfatos.

En la orina se han encontrado 5 metabolitos, el resveratrol monosulfato, dos isómeros del derivado glucurónido, y los conjugados monosulfato y monoglucurónido del metabolito bacteriano dihidroresveratrol. Estudios previos muestran que la suma total de derivados sulfatos se aproxima al 37% de metabolitos en la orina, y el total de glucurónidos al 19% junto con trazas de resveratrol aglicona. Los derivados glucurónidos y sulfatos del resveratrol son excretados en orina (de ratas y hombre), en lo que se considera la mayor vía de eliminación de este estilbeno, lo que viene avalado por la progresiva disminución de resveratrol detectada en riñón de ratas (Bertelli et al., 1998). Considerando estas cifras, existe un alto porcentaje de resveratrol cuyo destino se desconoce. También siguen sin identificar algunos metabolitos (Walle et al., 2004).

La vida media de los metabolitos en sangre se aproxima a las 9 horas, lo que indica que la exposición a estos derivados es mucho mayor que la debida al resveratrol aglicona. Al menos en parte la actividad debida a algunos de estos derivados podría explicar la paradoja relativa a la actividad del resveratrol respecto a su rápido metabolismo y escasa presencia como forma aglicona (Gesher et al., 2003). Otra explicación a este hecho podría residir en la participación de cascadas de señales activadas por el resveratrol aglicona a pesar de su baja concentración y/o rápido metabolismo. Se ha descrito en hombre que la excreción con el tiempo depende de la concentración de resveratrol presente en plasma. Sin embargo, no existe una correlación entre la cantidad excretada y la ingerida. Por tanto, cuando se ingieren pequeñas cantidades de resveratrol, éste es rápidamente metabolizado y eliminado mientras que si la cantidad ingerida es grande, entonces se puede detectar en tejidos y puede potencialmente entrar en las células para desplegar su acción (Meng et al., 2004). Esto podría explicarse por una "inhibición por exceso de sustrato" en transportadores y/o por una "inhibición competitiva" de estos transportadores mediada por la presencia de otros polifenoles (Lancon et al., 2004).

Urpí-Sardá et al. (2005) demostraron que el resveratrol se acumula en las partículas LDL, pudiendo contribuir a disminuir su susceptibilidad a oxidarse y por tanto incidiendo en un paso clave de la

aterogénesis. Se ha constatado que se detecta en plasma en igual cantidad tras administrar disuelto el resveratrol en diferentes vehículos (Goldberg et al., 2003).

Se ha asumido que la biodisponibilidad del resveratrol es baja, entendiéndose como ésta, la presencia circulante en sangre de la molécula sin modificar. Sin embargo, como se ha expuesto anteriormente, incluso la ingesta de dosis bajas pueden acumularse en las LDL incidiendo favorablemente en la prevención de episodios de aterosclerosis y, además, algunas formas conjugadas de larga vida media en circulación sistémica parecen presentar una alta actividad biológica. Geshet et al. (2003) se hicieron eco de esta aparente contradicción, la alta actividad biológica mostrada por el resveratrol y su aparente baja biodisponibilidad.

### 3. Toxicidad de los polifenoles

Kuhnau (1976) determinó que la ingesta diaria de polifenoles en EE.UU. era de aproximadamente 1 gramo al día. Los métodos de detección han evolucionado desde entonces, pero esta cifra sigue manteniéndose de forma general (Manach et al., 2004) (Brat et al., 2006) (Chun et al., 2007), aunque puede sufrir variaciones sustanciales entre países (Gran Bretaña por el consumo del té, China y Japón por el consumo de soja, etc.) y entre distintos sectores de la población, según sea su consumo de este tipo de alimentos (Manach et al., 2004).

Los estudios de toxicidad de los polifenoles más representativos de los concentrados de uva, resveratrol y catequinas (procianidinas), realizados en animales (Fujii et al., 2007) y humanos (Clifton, 2004), han dado como resultado la ausencia de efectos adversos a dosis muy altas, así como a dosis más moderadas (Brooker et al., 2006).

Por lo que respecta al resveratrol, existen evidencias de ausencia de toxicidad incluso a dosis muy altas. En este sentido, Juan et al. (2002) y Hebbar et al. (2005) demostraron la ausencia de efectos adversos en animales a dosis elevadas. Así mismo, Valverde et al. (2001) describen que el resveratrol no es mutagénico en el ensayo de mutación inversa en bacterias con y sin activación metabólica. En este mismo sentido, el estudio genotóxico llevado a cabo en el Centro Nacional de Alimentación (CNA) de la AESAN ha obtenido unos resultados que muestran efecto antimutagénico frente a todos los mutagenos y en todas las cepas en las que se realizó el estudio. Otros autores no han observado toxicidad renal en ratas (Crowell et al., 2004) ni efectos adversos serios en ratones, excepto una ligera anemia e incremento del colesterol (Horn et al., 2007) a altas dosis durante largo tiempo.

### Cuestión y términos en que se plantea

Se plantea la aplicación de la luz ultravioleta C en uva recolectada como tecnología para inducir estilbenos, fundamentalmente resveratrol, evaluándose la seguridad y eficacia del proceso.

### Inducción de polifenoles

El contenido de polifenoles en frutas, hortalizas y sus derivados (zumos, vino, confituras, etc.) se ve afectado por diversos factores. Dichos factores pueden aumentar el contenido en polifenoles cuando inducen la actividad enzimática anabólica (síntesis versus degradación); también pueden promover

asociaciones y derivar a nuevos compuestos, o bien pueden provocar la disminución cuando la actividad predominante es la catabólica (enzimas oxidativas), o cuando se producen degradaciones espontáneas relacionadas con la temperatura, pH, etc. Los factores más importantes que afectan el contenido de polifenoles (Tomás-Barberán y Espín, 2001) son:

- *Agronómicos*: clima, plagas, luz, suelo, zona geográfica, etc.
- *Genéticos*: cantidad de enzimas relacionadas con la síntesis y degradación de estos metabolitos, tipo de isoenzimas, localización de éstas en los tejidos, etc.
- *Postcosecha*: manipulación, daño mecánico, conservación, etc.
- *Procesado*: tanto industrial (fermentaciones, tratamientos térmicos, triturados, etc.) como doméstico (tipo de cocinado-microondas-vapor-agua, etc.).

Cuando los factores que afectan se pueden controlar y usar de manera dirigida para un objetivo concreto, se puede hablar de 'estrategias' para afectar el contenido polifenólico. Normalmente, las estrategias van encaminadas a preservar los polifenoles (mediante la inactivación de enzimas oxidativas) o bien para aumentar el contenido de éstos, bien por su efecto en la calidad sensorial, bien por su potencial efecto en la salud. Así, podríamos hablar de estrategias (Tomás-Barberán y Espín, 2001):

- *Genéticas*: cuando el objetivo es manipular genéticamente el vegetal para obtener variedades con mayor o menor actividad de alguna(s) enzima(s) concretas (normalmente para obtener variedades con menor actividad polifenol oxidasa, la principal enzima implicada en el pardeamiento enzimático de frutas y hortalizas a través de la oxidación de compuestos fenólicos para formar melaninas). Sin embargo, existe rechazo entre los consumidores a este tipo de manipulaciones y además, suele tener graves consecuencias para la planta (menor crecimiento, menor resistencia a las plagas, etc.).

- *Agronómicas*: como el uso de hormonas, ciclos luz-oscuridad como en el caso de manzanas para aumentar su pigmentación, etc.

- *Postcosecha*: entre las que, por ejemplo, se encuentran la refrigeración, los tratamientos a altas temperaturas, tratamientos 'emergentes' (como ultrasonidos, altas presiones, luz UVC y radiaciones ionizantes), atmósferas controladas, recubrimientos comestibles, tratamientos químicos, y combinaciones de dos o más de los anteriores.

## 1. Empleo de la luz UVC para la inducción de polifenoles

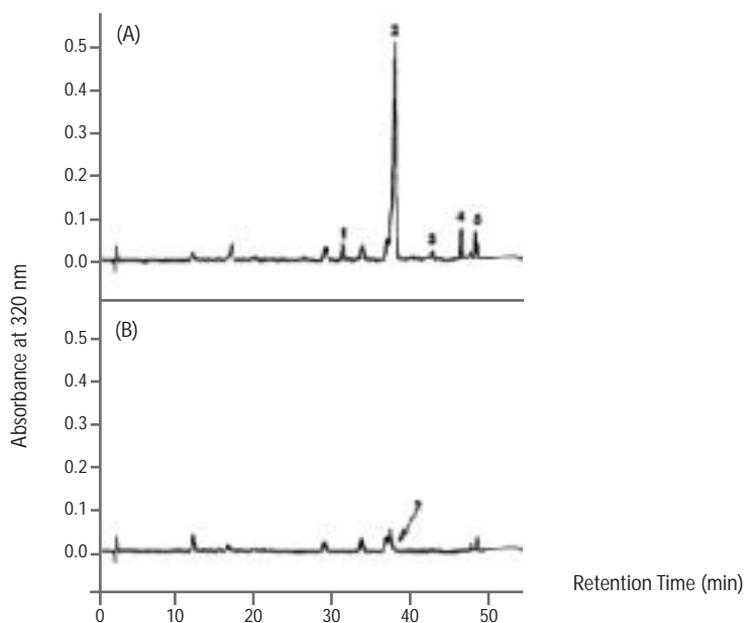
La energía ultravioleta (UV) es un tipo de radiación no ionizante con una longitud de onda de 100 a 400 nm que se clasifica en tres tipos: onda larga, UVA (313-400 nm), onda media, UVB (280-315 nm) y onda corta, UVC (200-280 nm). La UVC tiene su pico de emisión a 254 nm y es, de las tres, la que mayor acción germicida posee. El uso de la luz UVC como técnica de conservación de productos alimenticios se conoce desde principios del siglo XX y ha sido estudiada intensamente en este sentido (Abshire y Dunton, 1981) (Bintsis et al., 2000). El tratamiento con UVC ha sido considerado un tratamiento alternativo para preservar la calidad de frutas y hortalizas (Yaun et al., 2004) y se ha descrito el efecto beneficioso de la aplicación de pequeñas dosis de esta radiación para la conservación de distintas frutas y hortalizas (Ben-Yehoshua et al, 1992) (Nigro et al., 1998).

Dentro de los distintos tipos de estreses utilizados para inducir estilbenos, la luz ultravioleta C es uno de los más extensamente estudiados (Langcake y Pryce, 1976) (Langcake y Pryce, 1977) (Pryce y

Langcake, 1979) (Cantos et al., 2001) (Cantos et al., 2002) (Cantos et al., 2003a) (Cantos et al., 2003b) (González-Barrio et al., 2006). Según los estudios realizados, no existe ninguna hipótesis sólida que implique la presencia de otros compuestos no identificados en uva tras el tratamiento UVC.

### 1.1 Eficacia del proceso

En este sentido, Cantos et al. (2001) observaron que al someter las uvas a un tratamiento con luz ultravioleta se producía el aumento de un polifenol de manera significativa. Este polifenol mayoritariamente inducido se identificó como *trans*-resveratrol. Otros compuestos identificados fueron el piceatanol, químicamente similar al resveratrol pero con un grupo hidroxilo adicional, y varios tipos de viniferinas que son dímeros y trímeros de resveratrol. Todos estos compuestos forman parte del grupo de los estilbenos, por lo que se concluía que, en esencia, el proceso simula lo que ocurre en la naturaleza cuando la uva se ve agredida por algún tipo de estrés, si bien, en este caso, el proceso se controla para enriquecer la uva selectivamente en estilbenos. La optimización del tratamiento de la uva con luz UVC se llevó a cabo determinando las relaciones adecuadas entre tiempo de iluminación, potencia de las lámparas, distancia, etc., según la variedad de la uva para inducir el máximo de estilbenos posible sin deterioro de dichas uvas. El contenido de resveratrol en las uvas tratadas se situaba, según la variedad de las uvas, entre 0,69 mg/100 g peso fresco y 2,3 mg/100 g de peso fresco (Figura 2) (Cantos et al., 2002).

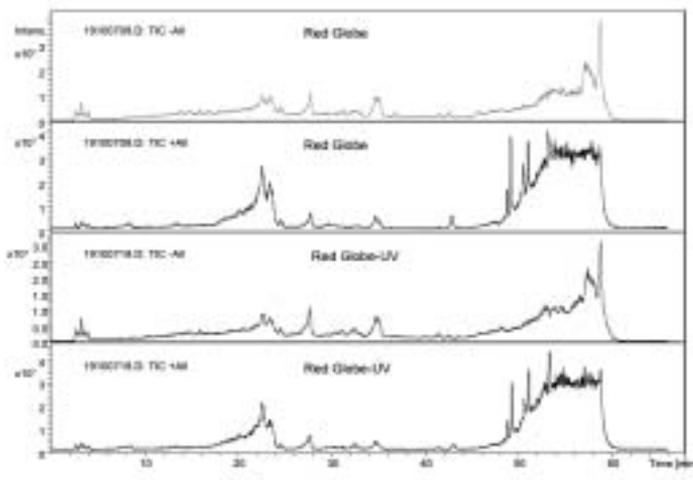
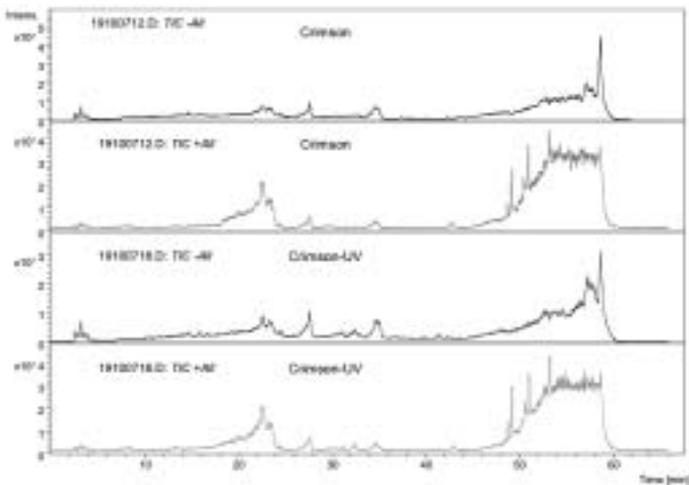


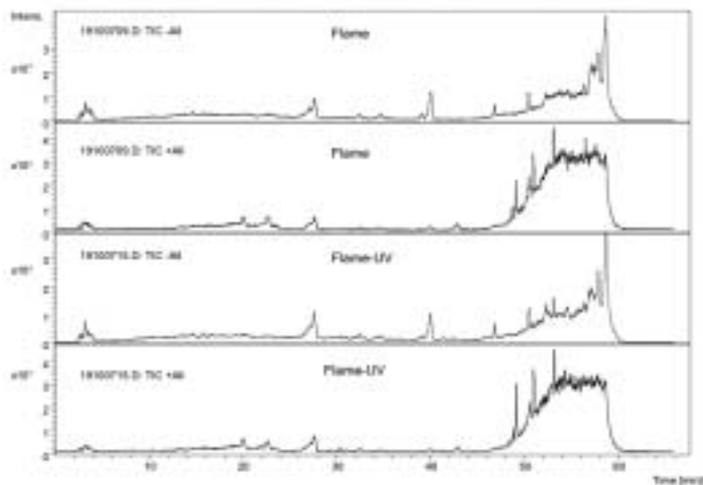
**Figura 2.** Cromatogramas HPLC de extractos de piel de uva roja variedad Red Globe a 320 nm (A) Uvas irradiadas UVC: (1) Piceatanno, (2) *trans*-resveratrol (el pico señalado con la flecha), (3) *cis*-resveratrol, (4)  $\epsilon$ 1- viniferina y (5)  $\epsilon$ 2 - viniferina. (B) Uvas control (no tratadas). Fuente: (Cantos et al., 2002).

## 1.2 Seguridad del proceso de inducción de polifenoles

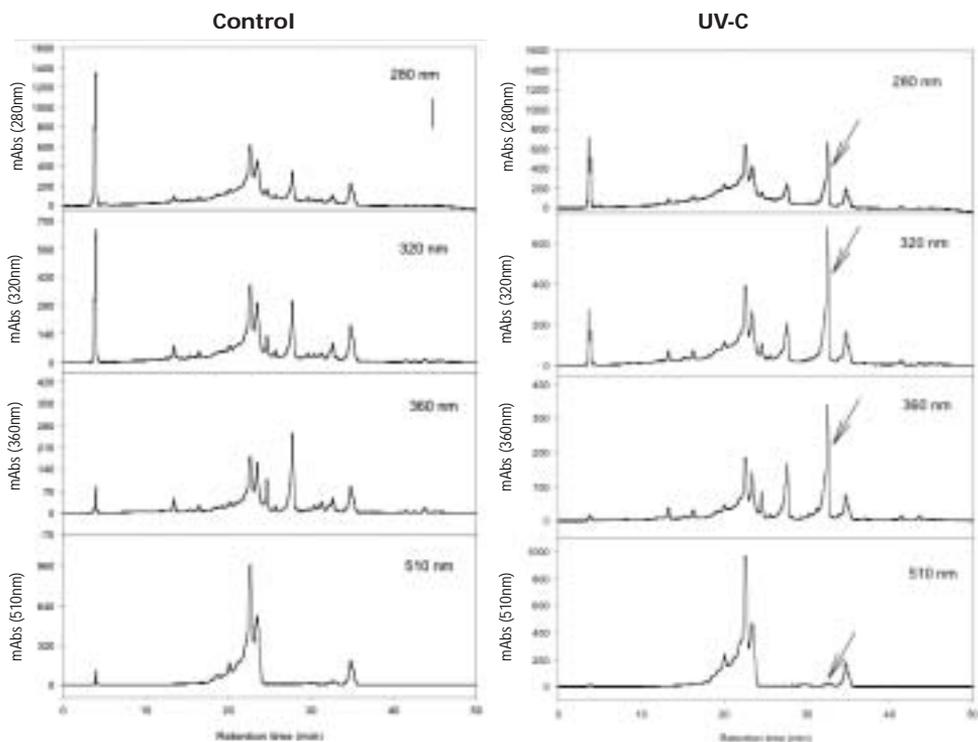
La aplicación continua de luz UVC ha sido descrita en manzanas (Wilson et al., 1997). Esta técnica no deja residuos en el vegetal y es letal para la mayoría de microorganismos (Bintsis et al., 2000). En EE.UU. se permite el uso de luz UVC en productos alimentarios, incluyendo frutas, para controlar la carga microbiana superficial (Rhim et al., 1999).

La luz UVC es un procedimiento extensivamente estudiado para inducir estilbenos en uva, y preservar la calidad de ésta (Langcake y Pryce, 1976) (Langcake y Pryce 1979) (Pryce y Langcake, 1977) (Roggero y García-Parrilla, 1995) (Nigro et al., 1998) (Douillet-Breuil et al., 1999) (Versari et al., 2001) (Cantos et al., 2000) (Cantos et al., 2001) (Cantos et al., 2002) (Cantos et al., 2003a) (Cantos et al., 2003b) (Takayanagi et al., 2004) (González-Barrio et al., 2006) (Romanazzi et al., 2006). En ningún estudio realizado se ha documentado la presencia de otros metabolitos de uva como consecuencia del tratamiento con UVC, a excepción de los estilbenos (Figuras 3 y 4).





**Figura 3.** 'Total Ion Chromatogram' (cromatograma total de iones moleculares) en modo positivo y negativo, de tres variedades de uva antes y después del tratamiento con UVC. No se detectan nuevos iones a excepción de los estilbenos en las tratadas con luz UVC.



**Figura 4.** Cromatogramas a distintas longitudes de onda (ultravioleta y visible) de una variedad de uva tinta (Crimson), antes y después del tratamiento con UVC. No se observa la inducción de ninguna otra sustancia a excepción del resveratrol (marcado con una flecha).

## 2. Procedimiento para la inducción de polifenoles por luz UVC

La optimización del tratamiento de la uva con luz UVC se lleva a cabo determinando las relaciones adecuadas entre tiempo de iluminación, potencia de lámparas, distancia, etc. Se calculó el tiempo que necesitaban las uvas (según variedad) para inducir el máximo de estilbenos posible sin deterioro de estas uvas. Todas esas variables son críticas pues, de no controlarlas convenientemente, se puede causar daño en la uva o inducir tan poca cantidad que sea irrelevante. La esencia de esta modelización (aunque se omiten algunos detalles propios de cualquier *know-how* de una patente) quedó reflejada en la publicación de Cantos et al. (2001). En ella se constata que el tratamiento con luz UVC no induce ningún otro metabolito secundario aparte de los estilbenos mencionados (avalado también por otros estudios recogidos en la literatura científica). Las uvas preservaron su contenido en vitamina C y no cambió significativamente el perfil del resto de los polifenoles. A partir de ahí se ha aplicado el método a otras variedades de uva blancas y tintas de mesa (Cantos et al., 2002) y de vino (Cantos et al., 2003a) así como unos preliminares en la fabricación de vino (Cantos et al., 2003b), si bien, el estado de la uva en vendimia hacen difícil el empleo de esta técnica (madurez, rotura de granos, etc.).

El contenido medio de resveratrol en estas uvas tratadas es de aproximadamente 2-3 mg/100 g peso fresco.

El escalado se consigue en un túnel piloto con lámparas germicidas UVC similares a las usadas en la desinfección de frutas y hortalizas. El tratamiento es en continuo y la iluminación dura aproximadamente 1 minuto. Después, la uva permanece en una cámara a temperatura controlada el tiempo necesario (viable industrialmente) para que la uva induzca el resveratrol.

## Conclusiones del Comité Científico

El proceso evaluado está basado en tecnologías y procesos ya utilizados en la industria alimentaria (lámparas germicidas).

La aplicación de la luz UVC como tecnología para la inducción de compuestos bioactivos de uva recolectada puede aumentar el contenido en fitoalexinas y estilbenos, fundamentalmente el resveratrol.

No se ha documentado la inducción por la luz UVC de otros metabolitos secundarios en uva aparte de los estilbenos mencionados. Así mismo, no se ha documentado evidencia científica que avale la presencia de efectos adversos en animales tras el empleo de resveratrol.

## Referencias

- Abshire, R.L. y Dunton, H. (1981). Resistance of selected strains of *Pseudomonas aeruginosa* to low intensity ultraviolet radiation. *Applied Environmental Microbiology*, 41. pp:1419-1423.
- Asensi, M., Medina, I., et al. (2002). Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability. *Free Radical Biology and Medicine*. 33. pp: 387-398.
- Baur, J.A., Pearson, K.J., et al. (2006). Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*. 444. pp: 337-342.
- Baur, J.A. y Sinclair, D.A. (2006). Therapeutic potential or reveratrol: the in vivo evidence. *Nature Reviews*. 5. pp: 493-506.
- Ben-Yehoshua, S., Rodov, V., et al. (1992). Performed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to the enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40. pp: 1217-1221.

- Bertelli, A., Bertelli, A.A.E., Gozzini, A., et al. (1998). Plasma and tissue resveratrol concentrations and pharmacological activity. *Drugs under Experimental and Clinical Research*. 24. pp: 133-138.
- Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E. y Robinson, R.K. (2000). Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry-a critical review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80. pp: 637-645.
- Boocock, D.J., Gesher, A.J., et al. (2006). Phase I single-dose safety and pharmacokinetics clinical study of the potential cancer chemopreventive agent resveratrol. *Proceedings of the American Association of Cancer Research*. 47: Abstract #5741.
- Bradamante, S., Barengi, L., et al. (2004). Cardiovascular protective effects of resveratrol. *Cardiovascular Drug Reviews*. 22. pp: 169-188.
- Brat, P., George, S., et al. (2006). Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *Journal of Nutrition*, 136. pp: 2368-2373.
- Brooker, S., Martin, S., et al. (2006). Double-blind, placebo-controlled, randomised phase II trial of IH636 grape seed proanthocyanidin extract (GSPE) in patients with radiation-induced breast induration. *Radiotherapy and Oncology*. 79. pp: 45-51.
- Cantos, E., García-Viguera, C., de Pascual-Teresa, S. y Tomás-Barberán, F.A. (2000). Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of cv. Napoleon table grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48. pp: 4606-12.
- Cantos, E., Espín, J.C., et al. (2001). Postharvest induction modeling method using UV irradiation pulses for obtaining resveratrol-enriched table grapes. A new functional fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49. pp: 5052-5058.
- Cantos, E., Espín, J.C., et al. (2002). Postharvest stilbene-enrichment of red and white table grape varieties using UV-C irradiation pulses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50. pp: 6322-6329.
- Cantos, E., Tomás-Barberán, F.A., et al. (2003a). Differential stilbene induction susceptibility of seven red wine grape varieties upon postharvest UV-C irradiation. *European Food Research and Technology*, 217. pp: 253-258.
- Cantos, E., Espín, J.C., et al. (2003b). Postharvest UV-C Irradiated Grapes as Potential Source for Producing Stilbene-Enriched Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51. pp: 1208-1214.
- Casper, R.F., Quesne, M., Rogers, I.M., et al. (1999). Resveratrol has antagonist activity on the aryl hydrocarbon receptor: Implications for prevention of dioxin toxicity. *Molecular Pharmacology*. 56. pp: 784-790.
- Chowieniczky, P.J., Brett, S.E., et al. (2000). Oral treatment with an antioxidant (rifaxofelast) reduces oxidative stress and improves endothelial function in men with type II diabetes. *Diabetologia*. 43. pp: 974-977.
- Chun, O.K., Chung, S.J., et al. (2007). Estimated dietary flavonoid intake and major food sources of U.S. adults. *Journal of Nutrition*. 137. pp:1244-1252.
- Clifton, P.M. (2004). Effect of grapeseed extract and quercetin on cardiovascular and endothelial parameters in high risk subjects. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. pp: 272-278.
- Crowell, J.A., Korytko, P.J., et al. (2004). Resveratrol-associated renal toxicity. *Toxicological Sciences*. 82. pp: 614-619.
- Douillet-Breuil, A.C., Jeandet, P., Adrian, M. y Bessis, N. (1999). Changes in the phytoalexin content of various *Vitis* spp. In response to ultraviolet C elicitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47 pp: 4456-4461.
- Dragsted, L.O., Strube, M., et al. (1993). Cancer-protective factors in fruits and vegetables: biochemical and biological background. *Pharmacology & Toxicology*. 72. pp: 116-35.
- Fujii, H., Sun, B.X., et al. (2007). Evaluation of the safety and toxicity of the oligomerized polyphenol Oligonol. *Food and Chemical Toxicology*. 45. pp: 378-387.
- Galli, R.L., Shukitt-Halle, B., et al. (2002). Fruit polyphenolics and brain aging: nutritional interventions targeting age-related neuronal and behavioral deficits. *Annals of New York Academy of Sciences*. 959. pp: 128-132.
- Gesher, A.J. y Steward, W.P. (2003). Relationship between mechanisms, bioavailability, and preclinical chemopreventive efficacy of resveratrol: a conundrum. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 12, pp: 953-957.
- Goldberg, D.A., Yan, J. et al. (2003). Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. *Clinical Biochemistry*. 36. pp: 79-87.

- González-Barrio, R., Beltrán, D., Cantos, E., Gil, M.I., Espin, J.C. y Tomás-Barberán, F.A. (2006). Comparison of Ozone and UV-C Treatments on the Postharvest Stilbenoid Monomers, Dimers and Trimers Induction in Var. 'Superior' White Table Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54. pp: 4222-4228
- Halliwell, B. (2000). Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should we move forward? *Cardiovascular Research*. 47. pp: 410-418.
- Halliwell, B. (2001). Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging*. 18. pp: 685-716.
- Halliwell, B. (2002). Effect of diet on cancer development: is oxidative DNA damage a biomarker? *Free Radical & Biology Medicine*. 32. pp: 968-974.
- Hebbar, V., Shen, G.X., et al. (2005). Toxicogenomics of resveratrol in rat liver. *Life Sciences*. 76. pp: 2299-2314.
- Horn, T.L., Cwik, M.J., et al. (2007). Oncogenicity evaluation of resveratrol in p53 (+/-) (p53 knockout) mice. *Food and Chemical Toxicology*. 45. pp: 55-63.
- Howitz, K.T., Bitterman, K.J., et al. (2003). Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*. 425. pp: 191-196.
- Jang, M.S., Cai, E.N., et al. (1997). Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 275. pp: 218-220.
- Juan, M.E., Vinardell, M.P. y Planas, J.M. (2002). The daily oral administration of high doses of trans-resveratrol to rats for 28 days is not harmful. *Journal of Nutrition*. 132. pp: 257-260.
- Kuhnau, J. (1976). The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Review of Nutrition and Dietetics*. 24. pp: 117-91.
- Lancon, A., Delmas, D., Osman, H., et al. (2004). Human hepatic cell uptake of resveratrol: involvement of both passive diffusion and carrier-mediated process. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 316. pp: 1132-1137.
- Langcake, P. y Pryce, R.J. (1976). The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiology & Plant Pathology*. 9. pp: 77-86.
- Langcake, P. y Pryce, R.J. (1977). Production of resveratrol and viniferins by grapevines in response to UV irradiation. *Phytochemistry*. 16. pp: 1193-1196.
- Lekakis, J., Rallidis, L.S., et al. (2005). Polyphenolic compounds from red grapes acutely improve endothelial function in patients with coronary heart disease. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*. 12. pp: 596-600.
- Manach, C., Scubert, A., et al. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79. pp: 727-747.
- Marfella, R., Cacciapuoti, F., et al. (2006). Effect of moderate red wine intake on cardiac prognosis after recent acute myocardial infarction of subjects with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*. 23. pp: 974-981.
- Marier, J.F., Vachon, P., Gritsas, A., et al. (2002). Metabolism and disposition of resveratrol in rats: Extent of absorption, glucuronidation, and enterohepatic recirculation evidenced by a linked-rat model. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 302. pp: 369-373.
- Meng, X.F., Maliakal, P., Lu, H., et al. (2004). Urinary and plasma levels of resveratrol and quercetin in humans, mice, and rats after ingestion of pure compounds and grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52. pp: 935-942.
- Nigro, F., Ippolito, A., et al., (1998). Use of UV-C light to reduce Botrytis storage rot of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*. 13. pp: 171-181.
- Nonomura, S., Kanagawa, H., et al. (1963). Chemical constituents of polygonaceous plants I. Studies on the components of Ko-jo-kon (*Polygonum cuspidatum* Sieb. Et Zucc.). *Yakugaku Zasshi*. 83. pp: 988-990.
- Pryce, R.J. y Langcake, P. (1979).  $\alpha$ -Viniferin-Antifungal resveratrol trimer from grapevines. *Phytochemistry*. 16. pp: 1452-1454.

- Rhim, J.W., Gennadios, A., et al. (1999). Properties of ultraviolet irradiated protein films. *Lebensmittel Wissenschaft u. Technologie*. 32. pp: 129-133.
- Rimando, A.M., Kalt, W., et al. (2004). Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in Vaccinium berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52. pp: 4713-4719.
- Roggero, J.P. y Garcia-Parrilla, C. (1995). Effects of ultraviolet irradiation on resveratrol and changes in resveratrol and various of its derivatives in the skins of ripening grapes. *Sciences des Aliments*. 15. pp: 411-422.
- Romanazzi, G., Gabler, F.M. y Smilanick, J.L. (2006). Preharvest chitosan and postharvest UV irradiation treatments suppress gray mold of table grapes. *Plant Disease*. 90. pp: 445-450.
- Sinha, K., Chaudhary, G., et al. (2002). Protective effect of resveratrol against oxidative stress in middle cerebral artery occlusion model of stroke in rats. *Life Sciences*, 71. pp: 655-665.
- Shaheen, S.O., Sterne, J.A., et al., (2002). Dietary antioxidants and asthma in adults:
- Sohal, R.S., Mockett, R.J., et al. (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical & Biology Medicine*. 33. pp: 575-586.
- Sobolev, V.S. y Cole, R.J. (1999). Trans-resveratrol content in commercial peanuts and peanut products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47. pp: 1435-1439.
- Takaoka, M.J. (1940). Of the phenolic substances of white hellebore (*Veratrum grandiflorum* Loes. Fil). *Journal of Faculty of Sciences Hokkaido Imperial University*. 3. pp: 1-16.
- Takayanagi, T., Okuda, T., Mine, Y. y Yokotsuka, K. (2004). Induction of resveratrol biosynthesis in skins of three grape cultivars by ultraviolet irradiation. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 73. pp: 193-199.
- Tomás-Barberán, F.A. y Espín, J.C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agricultural*. 81. pp: 853-876.
- Urpí-Sardá, M., Olaga-Jarúregui, Lamuela-Raventós, R.M., et al. (2005). Uptake of diet resveratrol into the human low-density lipoprotein. Identification and quantification of resveratrol metabolites by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*. 77. pp: 3149-3155.
- Valenzano, D.R., Terzibasi, E., et al., (2006). Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate. *Current Biology*. 16. pp: 296-300.
- Valverde, M., Barea, M., Pollastrini, M.T., Pérez-Labad, M.L., Escaso-Salguero, M. y Sanz, F. (2001). Resveratrol: ensayo de mutación inversa. *Revista de Toxicología*. 18. pp: 165.
- Versari, A., Parpinello, G.P., Torielli, G.B., Ferrarini, R. y Glutivo, C. (2001). Stilbene compounds and stilbene synthase expression during ripening, wilting, and UV treatment in grape cv. Corvina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49. pp: 5531-5536.
- Vinson, J., Proch, J., et al. (2001). MegaNatural gold grapeseed extract: in vitro antioxidant and in vivo human supplementation studies. *Journal of Medicinal Food*. 4. pp: 17-26.
- Vitseva, O., Varghese, S., et al. (2005). Grapeseed and skin extracts inhibits platelet function and release of reactive oxygen intermediates. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 46. pp: 445-451.
- Walle, T., Hsieh, F., et al. (2004). High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metabolism and Disposition*. 32. pp: 1377-1382.
- Wang, Q., Xu, J.F. et al. (2002). Resveratrol protects against global cerebral ischemic injury in gerbils. *Brain Research*. 958. pp: 439-447.
- Wenzel, E. y Somoza, V. (2005). Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. *Molecular Nutrition and Food Research*. 49. pp: 472-481.
- Williamson, G. y Manach, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans.II. Review of 93 intervention studies. *American Journal of Clinical Nutrition*. 81. pp: 243S-255S.
- Wilson, C.L., El Ghaouth, B., et al. (1997). Using an on-line UV-C apparatus to treat harvested fruit for controlling postharvest decay. *Technology Products Reports*. 7. pp: 278-282.

- Yamakoshi, J., Kataoka, S., et al. (1999). Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*. 142. pp: 421-422.
- Yaun, B.R., Sumner, S.S., et al. (2004). Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International Journal of Food Microbiology*. 90. pp: 1-8.

# Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación con una petición planteada por el Director Ejecutivo de la Agencia acerca del establecimiento de un criterio microbiológico para *Salmonella* en los huevos destinados al consumo directo

## Miembros del Comité Científico

Andreu Palou Oliver, Juan José Badiola Diez, Arturo Anadón Navarro, Margarita Arboix Arzo, Albert Bosch Navarro, Juan Francisco Cacho Palomar, Francesc Centrich Escarpenter, M<sup>a</sup> Luisa García López, Manuela Juárez Iglesias, Manuel Martín Esteban, Susana Monereo Megias, Juan Antonio Ordóñez Pereda, Andrés Otero Carballeira, Fernando Rodríguez Artalejo, Elías Rodríguez Ferri, José Manuel Sánchez-Vizcaino Rodríguez, Vicente Sanchis Almenar, Gregorio Varela Moreiras, Pablo Vera Vera, Gonzalo Zurera Cosano

## Secretario

Jesús Campos Amado

Número de referencia: AESAN- 2007-008  
Documento aprobado por el Comité Científico  
en sesión plenaria de 14 de noviembre de 2007

## Grupo de Trabajo

Andrés Otero Carballeira (Coordinador)  
Margarita Arboix Arzo  
Albert Bosch Navarro  
María Luisa García López  
Juan Antonio Ordóñez Pereda  
Eliás Rodríguez Ferri  
Vicente Sanchis Almenar  
Gonzalo Zurera Cosano

## Resumen

La salmonelosis humana presenta una destacada prevalencia tanto a nivel mundial como a nivel europeo y nacional y constituye una causa principal del grupo de enfermedades de transmisión alimentaria con graves consecuencias económicas, sociales y sanitarias.

Dentro del programa integrado de control de *Salmonella* en huevos y ovoproductos, se ha propuesto el establecimiento de un criterio microbiológico para huevo destinado a consumo directo en base al cual puedan sustanciarse actuaciones de control oficial.

El Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición ha optado por una evaluación cualitativa del riesgo para emitir esta opinión, debido a la falta de datos que permitan una evaluación cuantitativa del riesgo microbiológico.

## Palabras clave

Salmonelosis, *Salmonella*, criterio microbiológico, control oficial.

**Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) in connection with a request made by the Executive Director of the Agency concerning the establishment of a microbiological criteria for *Salmonella* in eggs meant for consumption.**

## Abstract

Human salmonellosis has a high level of prevalence at the global, European and national level, and is a major cause of foodborne illnesses resulting in severe economic, social and health consequences.

Within the integrated control program of *Salmonella* in eggs and egg products, a proposal has been

made for the establishment of microbiological criteria for eggs meant for direct consumption on the basis of which it can be substantiated by official control.

The Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition has decided to carry out a qualitative risk assessment to support this view, because there is a lack of data that permits a quantitative microbiological risk assessment.

### Key Words

Salmonellosis, *Salmonella*, microbiological criteria, official control.

## Cuestión y términos en los que se plantea

Dentro del programa integrado de control de *Salmonella* en huevos y ovoproductos, la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición propuso el establecimiento de un criterio microbiológico para el huevo destinado a consumo directo. Para la adopción de esta medida, el Director Ejecutivo de la Agencia, solicita al Comité Científico de la misma un dictamen que permita adoptar una disposición normativa, referida explícitamente al umbral de *Salmonella* spp. en huevo de consumo directo, en base a la cual puedan sustanciarse actuaciones de control oficial, con independencia de la detección de *Salmonella* en otros productos o muestras.

## Salmonelosis asociadas al consumo de huevos y ovoproductos en España: importancia y principales factores determinantes

Los microorganismos del género *Salmonella* comprenden las especies *S. enterica* y *S. bongori*. En la primera (*S. enterica*) se incluyen 6 subespecies, siendo *S. enterica* subsp. *enterica* la de mayor interés desde el punto de vista patógeno, en la que se incluyen más de 2.500 serovares (o serotipos). Todas las especies animales, incluido el hombre, pueden afectarse por dos grupos de serotipos: específicos e inespecíficos. El mayor interés epidemiológico corresponde precisamente a estos últimos, ordinariamente transmitidos por consumo de alimentos y agua contaminados y responsables, en el hombre, de cuadros de gastroenteritis, de gran importancia sanitaria y social. Las aves son, igualmente, susceptibles a serovares específicos (*S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Gallinarum*, con dos biotipos: *Gallinarum*, la causa del tifus aviar, y *Pullorum*, el agente de la pullorosis, ambos sistémicos y responsables de cuadros graves y alta mortalidad en pollitos, aunque *Gallinarum*, puede producir también enfermedad grave en aves de más de tres semanas) que fueron erradicados de España hace tiempo, e inespecíficos, que se describen en todo el mundo y de los que son uno de sus vehículos principales.

La salmonelosis humana (gastroenteritis por serovares de *Salmonella*, inespecíficos) presenta una destacada prevalencia tanto a nivel mundial como a nivel europeo y nacional y constituye una causa principal (en algunas regiones, la primera) del grupo de enfermedades de transmisión alimentaria con graves consecuencias económicas, sociales y sanitarias. En la Unión Europea, la prevalencia de salmonelosis humana en el año 2005 fue de 38,2 casos por 100.000 habitantes (EFSA, 2006), solo superada por los casos de campilobacteriosis (51,6 casos por 100.000 habitantes, la misma fuente).

La salmonelosis humana por este origen (serovares inespecíficos), después de un periodo de incubación de 6-48 horas (18-36 horas de promedio) cursa habitualmente en forma de gastroenteritis más o menos grave, con náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal y fiebre. En algunos enfermos, sin embargo, la enfermedad invasiva consecuente con bacteriemia, puede producir lesiones en múltiples órganos y ser mortal (tasa estimada en el 2% de los casos, que en la UE supone al año alrededor de 200 fallecimientos) o manifestarse en secuelas a largo plazo, de las que la más frecuente es una artritis reactiva, en forma de síndrome de Reiter, cuya incidencia ha sido estimada en el 5% de los casos. Además, no debe olvidarse el problema añadido de la inducción y difusión de resistencias antimicrobianas, cuya importancia creciente, es motivo principal de preocupación de todas las Administraciones.

En las aves, los efectos de la infección dependen de la edad. En animales jóvenes (pollitos y pollitas) produce una enfermedad sistémica que generalmente es causa de alta mortalidad. En aves de

mayor edad y adultas, las salmonelas son causa de una infección persistente, habitualmente asintomática (portadores asintomáticos), con colonización intestinal y situaciones sistémicas transitorias de escasa gravedad. El lugar principal de colonización son los ciegos, lo que facilita la transmisión horizontal al producirse la contaminación de las heces (que facilita la contaminación de los huevos durante la puesta y de las canales durante el sacrificio y eviscerado) con probable retroinfección del tracto reproductor. En el animal vivo los macrófagos, en los que las salmonelas sobreviven y se multiplican, son incapaces de eliminar la infección, contribuyendo a su difusión, incluido el tracto reproductor. La respuesta innata, que es diferente según el serotipo, y que se exalta en presencia de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) que la modula, también puede contribuir a la difusión sistémica, incluyendo la infección de los ovarios y la contaminación de los huevos<sup>1</sup>. La condición de portador asintomático se conoce mal y se comprende peor, pudiendo estar influenciada por la capacidad de colonización y la respuesta humoral, siendo más efectiva en el aclaramiento la respuesta local.

Los huevos y los productos derivados del huevo constituyen el principal vehículo de las salmonelosis humanas tanto en Europa (en particular en España) como en muchos otros países (SCVPH, 2003), a los que se suman la carne de cerdo y aves.

Aparte de las oportunidades de contaminación endógena de los huevos, durante su formación, a partir de casos de infección ovárica, habitualmente se produce contaminación superficial de la cáscara a partir de las heces, en la cloaca, en los nidales, en la cinta transportadora, en los sistemas colectores hasta el centro de clasificación, etc., siendo particularmente vulnerables los huevos con fisuras, los huevos rotos y cualquier otro tipo de deficiencia, lo que les convierte en fuentes de infección para huevos sanos, a los que contaminan. En el hogar o la industria, los huevos con cáscara contaminada, son fuentes potenciales de contaminación para el producto, durante la manipulación previa al consumo.

En España, en el período 1986-2005 se han declarado anualmente entre 756 y 1.217 brotes anuales de enfermedades transmitidas por los alimentos. De ellos cerca de un 40% se han asociado al consumo de huevos y derivados, y, en alrededor de un 85% de estos últimos, el agente etiológico responsable se adscribió al género *Salmonella* (alrededor de un 53% de las cepas se adscribieron al serotipo Enteritidis), si bien *Salmonella* se identificó como agente etiológico en el 98% de los brotes transmitidos por huevos y ovoproductos en los que se completó la identificación del agente etiológico (según datos de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica).

Por otra parte, si bien se trata de una información parcial, pues únicamente declararon una parte de los hospitales nacionales, el Servicio de Información Microbiológica, ha registrado entre los años 2000 y 2005 un total de 45.464 casos de salmonelosis en España (una media de cerca de 7.600 casos por año), según se recoge en el Boletín Epidemiológico Semanal del Ministerio de Sanidad y Consumo.

Como factores determinantes de los casos de salmonelosis humanas asociados a huevos y ovoproductos hay que considerar:

1. Los múltiples factores que condicionan la probabilidad de que los huevos, sea a nivel interno o externamente, estén contaminados con *Salmonella* al final del proceso de producción en granja.

[1] En la infección por *S.e. Enteritidis* se produce menos IFN- $\gamma$  que en la infección por *S.e. Typhimurium*, lo que facilita la diseminación sistémica y la infección de los ovarios, con la consiguiente contaminación de los huevos.

Entre ellos adquieren especial relevancia la prevalencia de granjas con aves portadoras de *Salmonella*, la de aves contaminadas en cada granja, el número de salmonelas excretadas por las aves, la frecuencia de huevos contaminados internamente en el momento de la puesta, el sistema de producción, la calidad bacteriológica del agua y piensos (o materias primas para piensos), así como las condiciones higiénicas de la granja y de los procesos de recogida, clasificación y manipulación de los huevos.

2. Los que condicionan la persistencia y/o multiplicación de *Salmonella* en los sustratos alimenticios durante los procesos de conservación y procesado de los huevos (principalmente factores intrínsecos, propiedades del sustrato, factores extrínsecos, temperatura y tiempo de conservación, y tipo e intensidad de los tratamientos tecnológicos aplicados, esencialmente, intensidad del tratamiento térmico).
3. Los que condicionan la contaminación durante los procesos de preparación culinaria de productos derivados del huevo (principalmente, contaminación cruzada).
4. La contaminación exógena procedente de los manipuladores en cualquiera de las etapas de la cadena producción-consumo (especialmente en las etapas de preparación previa al consumo).

## Sentido y utilidad de los criterios microbiológicos

En el ámbito internacional, se entiende que “el criterio microbiológico para un alimento define la aceptabilidad de un producto o un lote de un alimento basada en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, incluidos parásitos, y/o en la cantidad de sus toxinas/metabolitos, por unidad o unidades de masa, volumen, superficie o lote” (FAO/OMS, 1997).

El planteamiento de partida de los criterios microbiológicos considera que mediante la investigación de la presencia de microorganismos (o alguno(s) de su(s) metabolito(s)) en los productos alimenticios se puede obtener información útil acerca de las consecuencias de la presencia y/o crecimiento microbiano en los productos alimenticios: en primer lugar, acerca de las consecuencias en términos sanitarios. Del mismo modo, puede obtenerse, en situaciones determinadas, información acerca del grado de cumplimiento de las buenas prácticas higiénicas, de la eficacia de determinados tratamientos tecnológicos, de la previsible vida útil del producto, etc.

### 1. Tipos de criterios microbiológicos

En consecuencia, y en función de su finalidad (ICMSF, 2002), se consideran tres tipos de criterios microbiológicos.

*Normas microbiológicas (microbiological standards)*: criterios microbiológicos de cumplimiento obligatorio, pues están incluidos en la legislación alimentaria (sólo los productos alimenticios que cumplan dichos criterios microbiológicos se consideran adecuados para el consumo humano).

*Directrices microbiológicas (microbiological guidelines)*: criterios de carácter voluntario que informan del cumplimiento o no de las buenas prácticas higiénicas durante la elaboración del producto alimenticio. Es conveniente señalar que si bien en algún caso se incorporan en la legislación alimentaria, su incumplimiento no condiciona la comercialización del producto.

*Especificaciones microbiológicas (microbiological specifications):* criterios del ámbito privado que se incluyen en los contratos de compra-venta de productos alimenticios o de sus ingredientes y cuya obligatoriedad o voluntariedad dependerá de las condiciones acordadas entre vendedor y comprador.

## 2. Limitaciones del análisis microbiológico de los alimentos y su utilidad en el contexto de la actual gestión de riesgos microbiológicos

Se acepta internacionalmente en los foros científicos que, con las posibilidades técnicas actuales (el análisis microbiológico se lleva a cabo mediante técnicas destructivas y/o técnicas de análisis de laboratorio, lo que impide la realización de inspecciones al 100%), el análisis microbiológico de los productos alimenticios antes de su consumo, incluso cuando se lleva a cabo con la aplicación de principios científicos sólidamente establecidos, no informa con razonable eficacia de su seguridad para el consumo. En el caso de los microorganismos patógenos, las contaminaciones reducidas, la desigual distribución microbiana contaminante, las propias limitaciones de los planes de muestreo y las inherentes a las técnicas analíticas (límite de detección, especificidad diagnóstica, etc.) justifican tal afirmación.

El reconocimiento de tal limitación ha determinado la sustitución paulatina de las normas microbiológicas de producto final por: (1) la implantación obligatoria de buenas prácticas higiénicas de obtención, elaboración, transporte, distribución, preparación para el consumo y venta de productos alimenticios, y (2) la obligatoriedad de utilización por los explotadores alimentarios (según la terminología del Reglamento (CE) nº 178/2002, -UE, 2002-) de un sistema preventivo basado en el control de los procesos (actualmente, el sistema HACCP -*Hazard Analysis and Critical Control Points*- ó APPCC -Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico-).

Sin embargo, aún con las limitaciones antes señaladas, los análisis microbiológicos de los productos alimenticios constituyen una herramienta necesaria para aproximarse al conocimiento del estatus sanitario de alimentos, para los que no se dispone de información acerca de las condiciones de elaboración (p.e., alimentos importados). Por otra parte, los análisis microbiológicos de los productos alimenticios pueden utilizarse en otras actividades de gestión de riesgos microbiológicos como puede ser, entre otras, el establecimiento del nivel de contaminación del entorno donde se elaboran o procesan productos alimenticios y la verificación de sistemas APPCC (ICMSF, 2002). Con menor frecuencia, los análisis microbiológicos se emplean como procedimientos de vigilancia de los puntos de control crítico. Otras aplicaciones del análisis microbiológico como la investigación epidemiológica y los estudios de mercado quedan fuera del ámbito de este dictamen.

## 3. Componentes del criterio microbiológico

Como se ha señalado en diversas ocasiones (SCF, 1997) (FAO/OMS, 1997) (ICMSF, 2002), un criterio microbiológico:

1. se aplica a un producto alimenticio concreto o a un grupo de productos alimenticios (microbiológicamente similares),
2. se establece para su aplicación en un punto determinado de la cadena alimentaria,
3. incluye:

- un parámetro microbiano [microorganismo(s), grupo(s) microbiano(s), metabolito(s) microbiano(s)] de importancia en el producto alimenticio al que se refiere (y la razón que justifica dicha importancia),
  - la metodología para la determinación del parámetro microbiano (y la tolerancia analítica),
  - un plan de muestreo en el que se indican: (i) el número de unidades de muestra que han de tomarse del lote o de la población de alimento cuya evaluación se pretende realizar, (ii) el tamaño y las características de la muestra y de la unidad analítica,
  - los límites microbiológicos que permiten evaluar el estado microbiológico del producto analizado, es decir, los valores que permiten calificar cada una de las unidades de muestra analizadas, y
  - los valores de aceptación y rechazo del lote, es decir, aquéllos que permiten inferir el estado microbiológico del lote o de la población analizados (habitualmente, en términos de número de unidades de muestra que alcanzan, entre las examinadas, una determinada calificación al compararla con los límites microbiológicos),
4. indica las acciones que procede adoptar cuando el criterio no se cumple (en primer lugar, destino del producto sometido a examen).

#### 4. Justificación de los criterios microbiológicos

Se acepta internacionalmente (FAO/OMS, 1997) (ICMSF, 2002) (CRUSCPSSF, 2003) que el establecimiento de criterios microbiológicos viene condicionado por:

1. Su eficacia en términos de Salud Pública: contribución a la mejora del estado sanitario.
2. La ausencia de otras medidas de gestión más eficaces o económicas.
3. Su aplicabilidad, en las condiciones rutinarias de trabajo del eslabón de la cadena alimentaria al que se refiere.
4. La justificación científica de su utilización.

#### 5. La evaluación del riesgo microbiológico

Los criterios microbiológicos constituyen una de las posibles medidas de gestión de los riesgos microbiológicos.

El establecimiento de criterios microbiológicos (o la revisión de los existentes), según los modelos de evaluación y gestión de riesgos actualmente en vigor (SCF, 1997) (FAO/OMS, 2002a) (ICMSF, 2002) (CRUSCPSSF, 2003) pasa por:

1. El establecimiento en términos cuantitativos de la dimensión del problema sanitario que se pretende abordar mediante la instauración de los criterios.
2. El establecimiento del nivel adecuado de protección (*appropriate level of protection*, ALOP) o del nivel que se considera técnicamente alcanzable (*as low as reasonably achievable*, ALARA).
3. La evaluación científica del riesgo que delimite los factores que condicionan el nivel de riesgo, la importancia cuantitativa de cada uno de ellos y la eficacia sanitaria de la actuación sobre los diversos factores de riesgo. En la medida de lo posible, la evaluación del riesgo (que ha de indicar asimismo las incertidumbres del proceso científico) ha de ser el resultado de un análisis cuantitativo (*quantitative microbiological risk assessment*, QMRA), si bien, las limitaciones en los datos y,

- en algún caso, de los propios modelos, justifican una aproximación cualitativa en la evaluación.
4. El establecimiento en base a la evaluación científica de los parámetros microbianos básicos de importancia para la gestión, principalmente los objetivos de inocuidad alimentaria (*Food Safety Objectives*, FSO) y su traslación a las distintas etapas o procesos (*Performance Objectives*, PO), los criterios de rendimiento de las distintas etapas y procesos (*Performance Criteria*, PC) y los criterios de producto y de proceso (*Product Criteria*, *Process Criteria*).
  5. La determinación científica de la eficacia (en términos de nivel de riesgo) de las distintas medidas de gestión disponibles (buenas prácticas higiénicas, sistema APPCC, educación sanitaria, criterios microbiológicos de producto final, criterios de rendimiento, etc.).
  6. La ponderación de los criterios científicos y de otro tipo para la decisión en relación con las medidas de gestión.

Sin embargo, en determinadas situaciones y en ausencia de una evaluación formal del riesgo realizada del modo señalado en los párrafos anteriores, se adoptan determinadas medidas de gestión (como el establecimiento de criterios microbiológicos) basadas en otras aproximaciones a la evaluación del riesgo.

## Evaluación del riesgo de salmonelosis por el consumo de huevos de consumo directo

Si bien es cierto que se han realizado múltiples evaluaciones del riesgo de salmonelosis por consumo de huevos y ovoproductos (Advisory Committee, 2001) (Coleman et al., 2005) (FAO/WHO, 2002b) (FSIS, 1998) (Grijpspeerdt y Herman, 1999) (JEMRA, 2001) (Lake et al., 2001) (Schroeder et al., 2006) (Todd, 1996), también lo es que no se dispone de datos suficientes para evaluar si las conclusiones alcanzadas pueden ser aplicadas a la situación española. A menudo, además, las situaciones no diferencian entre huevos y ovoproductos, lo que supone un inconveniente añadido a la hora de referirse a los primeros.

En consecuencia, el Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición ha optado, principalmente, por una evaluación cualitativa del riesgo para emitir esta opinión. Este procedimiento ha sido también el utilizado, con carácter general, para la elaboración del Reglamento (CE) n.º 2073/2005 (UE, 2005).

Del mismo modo, el Comité ha considerado que el citado Reglamento (CE) n.º 2073/2005 ya contempla un criterio microbiológico para *Salmonella* en aquellos ovoproductos en los que el proceso de fabricación o la composición del producto no eliminen el riesgo asociado a dicho peligro (criterio de seguridad;  $n = 5$ ;  $c = 0$ ;  $m =$  ausencia en 25 g; metodología EN/ISO 6579; para ser aplicado en productos comercializados durante su vida útil).

## Otros factores a considerar en la elección de un criterio microbiológico para *Salmonella* en huevos de consumo directo

### 1. Huevos frescos

De acuerdo con las normas de comercialización de los huevos vigentes en este país (Reglamento (CE) n.º 1028/2006, -UE, 2006-) los huevos de consumo directo corresponden en la Unión Europea a la categoría A ó huevos frescos, para los que dichas normas de comercialización (en concreto el

Reglamento (CE) nº 557/2007,-UE, 2007a-) establecen algunas especificaciones tanto externas (cáscara y cutícula de forma normal, limpia e intacta) como internas. Además, salvo para los preparados en nueve centros de embalaje de Suecia y un centro de los Países Bajos (y comercializados únicamente en dichos países), tanto el lavado como la limpieza de los huevos de la categoría A constituyen prácticas prohibidas. Tampoco se contempla la posibilidad de incidir en la desinfección del producto mediante la utilización de envases especiales 'activos'.

## 2. Criterio de seguridad alimentaria

Los criterios microbiológicos pueden adoptarse con una doble finalidad: como criterios de seguridad alimentaria o como criterios de higiene de los procesos. En relación con los huevos frescos, si bien el recuento de mesófilos aerobios y de bacterias Gram-negativas pudiera ser utilizado para evaluar los puntos de la cadena de procesado que proporcionan una mayor contaminación (De Reu et al., 2005), no se dispone de información suficiente que permita relacionar el nivel de contaminación con estos microorganismos indicadores con la presencia de *Salmonella*.

En consecuencia, en términos de seguridad alimentaria, el criterio debería establecer como parámetro microbiológico el propio peligro (*Salmonella*).

## 3. Serotipos de *Salmonella*

Como se ha comentado con anterioridad, el género *Salmonella*, en particular *Salmonella enterica* subesp. *enterica*, incluye más de 2.500 serotipos, en su mayor parte inespecíficos de hospedador.

De acuerdo con los datos del Laboratorio Nacional de Referencia de *Salmonella* y *Shigella* de España, en el período 2003-2005, se tipificaron 251 cepas aisladas de alimentos que contenían huevo, siendo los serotipos mayoritarios *Enteritidis* (53,8%), *Infantis* (9,6%), *Virchow* (9,2%), *Ohio* (6,0%), *Livingstone* (3,6%), *Muenchen* (2,8%) y *Typhimurium* (2,0%).

En el estudio realizado en España entre octubre de 2004 y octubre de 2005 para estimar la prevalencia de *Salmonella* en manadas de gallinas ponedoras los serotipos más frecuentes fueron *Enteritidis* (detectado en el 46,9% de las explotaciones), *Infantis* (10,7% de las explotaciones), *Ohio* (7,1%) y *Typhimurium* (5,7%) (Task Force on Zoonoses, 2007).

Si bien es cierto que los diferentes serotipos pueden tener consideraciones epidemiológicas distintas en cuanto a los mecanismos de difusión y llegada al huevo, así como repercusiones sanitarias diferentes (por su diferente probabilidad de persistencia y/o multiplicación en el interior del huevo –si es ésa su ubicación- y de difusión desde los huevos, así como por su diferente poder patógeno para el hombre), también lo es que tal diferenciación no es considerada en la elaboración de los criterios microbiológicos, que se refieren únicamente al género (*Salmonella*).

Teniendo en cuenta que un serotipo específico de las aves pueden encontrarse en los huevos como consecuencia, previsiblemente, de su empleo en vacunas aviares, en términos científicos es coherente fijar un criterio de seguridad alimentaria únicamente para los serotipos potencialmente patógenos para el hombre. A la hora de realizar la correspondiente evaluación coste-beneficio, hay que considerar, sin embargo, que la prevalencia de los serotipos específicos de las aves en los huevos es muy pequeña. Así, en las cepas de *Salmonella* procedentes de alimentos con huevo analizadas en el Laboratorio Nacional

de Referencia, la prevalencia del serotipo *Gallinarum* en los años 2003, 2004 y 2005 fue, respectivamente de 0, 0 y 5,6% (5 cepas de 109 analizadas), con un valor global para el trienio de 2% (5 de 251 cepas).

#### 4. Contaminación superficial o contaminación interna del huevo

Como se ha indicado con anterioridad, la contaminación del huevo con especies y serotipos del género *Salmonella*, puede ser interna o externa. Como se ha señalado al principio, las salmonelas pueden llegar al huevo desde el ovario contaminado (principalmente por el serotipo *Enteritidis*) o desde las heces, bien durante la puesta o después de ella. Esta contaminación a partir de material fecal es la ruta de transmisión más importante para los serotipos diferentes de *Enteritidis* aunque también puede ser utilizada por este serotipo (Humphrey, 1994).

Si bien el porcentaje de huevos que a nivel de granja están contaminados internamente con *Salmonella* es variable, la mayor parte de los estudios señalan que esta proporción es baja (3%) (Task Force on Zoonoses, 2007). Algunos de los escasos datos disponibles en nuestro país informan de prevalencias menores (0,3 % de los huevos procedentes de granjas asociadas con casos de salmonelosis humanas y 0,1% de los huevos procedentes de granjas no involucradas en brotes, –Perales y Audicana, 1989–). Sin embargo, la frecuencia de huevos que en los puestos de venta están contaminados externamente con *Salmonella* se estima que, en ocasiones, puede ser considerablemente superior (entre un 5 y un 24% de los huevos analizados en un estudio en la Comunidad Autónoma de Madrid entre los años 2003 y 2005 (Porrero et al., 2006); un 0,8% de los huevos procedentes de granjas asociadas con casos de salmonelosis humanas y un 0,5% de los huevos procedentes de granjas no involucradas en brotes (Perales y Audicana, 1989).

Teniendo en cuenta la gran importancia de la contaminación cruzada como mecanismo de transmisión de *Salmonella* la trascendencia sanitaria de la misma, a juicio de este Comité, no puede dejar de ser considerada.

#### 5. Metodología

Uno de los elementos clave de un criterio microbiológico es el establecimiento de la metodología de determinación. En el caso que nos ocupa la solución en relación con los procedimientos de recuperación, multiplicación e identificación del microorganismo buscado (*Salmonella*) parece sencilla (pues no hay razones que justifiquen un método de referencia diferente del incluido en el Reglamento (CE) nº 2073/2005 en los criterios relativos a este peligro).

Sin embargo, la decisión sobre la preparación de las muestras para el análisis requiere, al menos de alguna referencia. A falta de estudios que valoren el rendimiento de otras estrategias analíticas, el análisis de la cáscara (una vez separada del contenido interno del huevo) y de la totalidad del contenido del huevo pueden servir como indicadores de una contaminación predominantemente (o exclusivamente) superficial, en el primer caso, o únicamente interna (en el segundo), siempre que, por supuesto, se sigan unas adecuadas prácticas de asepsia en la separación de ambas fracciones. Si bien otros procedimientos de evaluación de la contaminación superficial del huevo pudieran ser aplicables (como el lavado completo del mismo y recogida del líquido de lavado, -De Reu et al., 2005-), sería preciso, antes de sugerir su empleo, disponer de información relativa a su rendimiento específico para la recuperación de *Salmonella*.

## 6. Selección de valores de n y c. Rendimiento del plan de muestreo

Los planes de muestreo incluidos en los criterios microbiológicos de aplicación en Europa son los denominados “planes de muestreo basados en atributos” sugeridos por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF, 1986) en los que en base al resultado obtenido al analizar un número de unidades de muestra examinadas (n) se acepta o rechaza el lote comparando el número de las n examinadas que no superan el valor microbiológico de referencia con el criterio de aceptación del lote (c). Esta aproximación (basada en la distribución binomial) no considera el tamaño del lote dado que en las circunstancias en que se realizan la mayor parte de los análisis microbiológicos para decidir sobre la calidad de los lotes (examinando una proporción pequeña del lote) el rendimiento del plan de muestreo apenas se ve influenciado por el tamaño del lote. Aunque pudiera optarse por planes de muestreo con una base estadística diferente, este Comité entiende que no hay razones científicas que justifiquen la modificación de esta tradición legislativa.

Basándose en el esquema de decisión sugerido por la ICMSF para la selección de un plan de muestreo a aplicar en un caso concreto (considerando la peligrosidad del microorganismo y la probabilidad de que la cuantía del mismo aumente o no antes del consumo del producto), para *Salmonella* en huevos frescos correspondería el caso 11, para el que la ICMSF sugiere un valor de  $n = 10$  y de  $c = 0$ .

Un plan de muestreo de estas características aunque calificaría como aceptable un lote que contenga un 1% de huevos contaminados con *Salmonella* en un 90% de las ocasiones, rechazaría lotes con niveles de contaminación superiores al 7% (porcentaje de huevos contaminados) en más de un 50% de las ocasiones (en la Tabla 1 se recogen otros valores de rendimiento del plan para lotes con entre un 1% y un 10% de huevos contaminados con *Salmonella*).

**Tabla 1.** Rendimiento de un plan de muestreo basado en atributos ( $n=10$ ;  $c=0$ )<sup>1</sup>.

Proporción de unidades defectuosas en el lote (%) <sup>2</sup>	Probabilidad de aceptación del mismo	Probabilidad de rechazo del mismo
1	0,90	0,10
2	0,82	0,18
3	0,74	0,26
4	0,66	0,34
5	0,60	0,40
6	0,54	0,46
7	0,48	0,52
8	0,43	0,57
9	0,39	0,61
10	0,35	0,65

[1] Datos basados en la distribución binomial.

[2] Porcentaje del huevos del lote contaminados con *Salmonella*.

## 7. Otros elementos del criterio microbiológico

### Punto de la cadena alimentaria en la que ha de aplicarse

A juicio de este Comité por razones epidemiológicas (reducir la difusión de los peligros) sería conveniente aplicar el criterio en las primeras etapas de la cadena producción-consumo.

### Destino de los productos que incumplen el criterio

El Comité entiende que los lotes de huevos que no cumplan el criterio no deben de ser comercializados como huevos frescos (categoría A), si bien se trata de productos nutritivos susceptibles de ser empleados en la alimentación humana una vez aplicado un tratamiento que elimine el peligro y que haya sido realizado en condiciones que garanticen la no difusión de las salmonelas.

## 8. Otros factores

Para la emisión de este dictamen el Comité también ha considerado las medidas de gestión del riesgo ya adoptadas, en concreto las recogidas en el Reglamento (CE) n.º 1237/2007 (UE, 2007b).

## Conclusión

A falta de datos que permitan una evaluación cuantitativa del riesgo microbiológico, el Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición considera que procede una aproximación clásica (evaluación cualitativa) para el establecimiento de un criterio microbiológico para los huevos frescos. Una vez realizada ésta, el Comité considera que el criterio:

- 1) ha de ser de seguridad alimentaria y debería referirse a serotipos de *Salmonella* potencialmente patógenos para el hombre,
- 2) ha de contemplar tanto la contaminación externa como la contaminación interna de los huevos,
- 3) debe incluir un número de muestras a analizar y un criterio de aceptación que proporcionen un rendimiento equivalente al que se alcanzaría con un plan de muestreo correspondiente al caso 11 de los contemplados por la ICMSF (1986). Según dicho plan, se aceptan los lotes en los que en ninguna de las 10 unidades de muestra analizadas se detecta *Salmonella*,
- 4) ha de aplicarse lo más pronto posible en la cadena producción-consumo,
- 5) debe contemplar el consumo humano como posible destino de los lotes que incumplan el criterio, una vez garantizada la inactivación del peligro.

## Referencias

- Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food (2001). Second Report on *Salmonella* in Eggs. London: HMSO. (United Kingdom).
- Coleman et al. (2005). Risk assessments of *Salmonella Enteritidis* in shell eggs and *Salmonella* spp. in egg products. FSIS. Disponible en: [http://www.fsis.usda.gov/PDF/SE\\_Risk\\_Assess\\_Oct2005.pdf](http://www.fsis.usda.gov/PDF/SE_Risk_Assess_Oct2005.pdf). El modelo está disponible en: [http://www.fsis.usda.gov/Science/SE\\_Risk\\_Assessment\\_Model/index.asp](http://www.fsis.usda.gov/Science/SE_Risk_Assessment_Model/index.asp)
- CRUSCPSSF (2003). Committee on the review of the use of scientific criteria and performance standards for safe food. Food and Nutrition Board & Board on Agriculture and Natural Resources Scientific criteria to ensure safe food. Washington., DC, USA. The National Academies Press.  
Disponible en: <http://www.nap.edu/books/030908928X/html>

- De Reu, K., K. Grijspeerdt, K.M., Heyndrickx, M., M. Uyttendaele M. y Herman L. (2005). The use of total aerobic and Gram-negative flora for quality assurance in the production of consumption eggs. *Food Control*, 16, pp:147-155.
- EFSA (2006). European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial resistance and Foodborne outbreaks in the European Union in 2005. *The EFSA Journal*, 94, pp: 3-288.  
Disponible en: [http://www.efsa.europa.eu/EFSA/DocumentSet/Zoonoses\\_Report\\_EU\\_en\\_2005.pdf](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/DocumentSet/Zoonoses_Report_EU_en_2005.pdf).
- FAO/OMS (1997). Comisión del Codex Alimentarius. Principios para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos para los alimentos (CAC/GL 21, 1997).  
Disponible en: [ftp://ftp.fao.org/codex/standard/es/CXG\\_021s.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/standard/es/CXG_021s.pdf)
- FAO/OMS (2002a). Comisión del Codex Alimentarius. Principles and guidelines for incorporating microbiological risk assessment in the development of food safety standards, guidelines and related texts. Report of a Joint FAO/WHO Consultation, Kiel, Germany, 18-22 March 2002.  
Disponible en: <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/march2002.pdf>
- FAO/OMS (2002b). Comisión del Codex Alimentarius. Risk assessment of *Salmonella* in egg and broiler chickens. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y4392e/y4392e00.pdf>.  
Resumen interpretativo disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y4393E/y4393E00.pdf>.
- FSIS (1998). *Salmonella Enteritidis* Risk Assessment. Shell Eggs and Egg Products. Prepared for the Food Safety and Inspection Service by the *Salmonella Enteritidis* Risk Assessment Team. Submitted June 12, 1998. Revised with editorial corrections August 10, 1998.  
Disponible en: <http://www.fsis.usda.gov/ophs/risk/>
- Grijspeerdt, K. y Herman, L. (1999). A microbiological safety consumer survey on the household use of eggs in Belgium. *Journal of Food Safety*, 19, pp: 249-261.
- Humphrey, T.J. (1994). Contamination of egg shell and contents with *Salmonella enteritidis*: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 21, pp: 31-40.
- ICMSF (1986). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in Foods, 2. Sampling for microbiological analysis. Principles and specific applications, 2nd Edition, Blackwell Science, Oxford. Segunda parte disponible en: <http://www.dfst.csiro.au/icmsf/icmsf2.pdf>.
- ICMSF (2002). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods 7: Microbiological testing in food safety management. Dordrecht, Holland. Kluwer Academic.
- JEMRA (2001). Risk characterization of *Salmonella* spp. in eggs and broiler chickens and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods, a joint FAO/WHO expert consultation, Rome, Italy, 30 April - 4 May 2001.  
Disponible en: <http://www.who.int/entity/foodsafety/publications/micro/en/may2001.pdf>.
- Lake, R., Hudson, A., Cressey, P. y Gilbert, S. (2004). Risk profile: *Salmonella* (non typhoidal) in and on eggs. Prepared as a part of a New Zealand Food Safety Authority contract for scientific services.  
Disponible en: <http://www.nzfsa.govt.nz/science/data-sheets/salmonella-eggs.pdf>.
- Perales, I. y Audicana, A. (1989). The role of hens' eggs in outbreaks of salmonellosis in north Spain. *International Journal of Food Microbiology*, 8, pp:175-180.
- Porrero, M.C., García, M., Cubillo, I., Rivero, E., Herrera, L., Marino, E., Sánchez, E., Iñigo, S., García, M., Vilas, F., Domínguez, L. y Moreno, M.A. (2006). Salmonellosis y huevos. *Profesión Veterinaria*, 1, pp: 28-32.  
Disponible en: <http://wpsaeca.com/img/informacion/wpsa1166521308a.pdf>
- Schroeder et al. (2006). Overview and summary of the Food Safety and Inspection Service Risk Assessment for *Salmonella Enteritidis* in shell eggs, October 2005. *Foodborne Pathogens and Disease*, 3 (4), pp: 403-412.
- SCF (1997). Scientific Committee for Food. Principles for the development of risk assessment of microbiological hazards under the hygiene of foodstuffs Directive 93/43/EEC (expressed on 13th June 1997). List of Reports of the Scientific Committee for Food (1974-1997). Forthly-four Series (2000), pp: 5-22.

- Disponible en: [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/reports/scf\\_reports\\_44.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_44.pdf)
- SCVPH (2003). Scientific Committee on Veterinary measures relating to Public Health. Dictamen del SCVPH (14-15 de abril de 2003) sobre las salmonelas en los productos alimenticios.
- Disponible en: [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out66\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out66_en.pdf)
- Task Force on Zoonoses (2007). Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline study on the prevalence of *Salmonella* in holdings of laying hen flocks of *Gallus gallus*. *The EFSA Journal*, 97, pp : 1-85.
- Disponible en: [http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/monitoring\\_zoonoses/reports/report\\_finlayinghens.Par.0001.File.dat/zoon\\_report\\_ej97\\_finlayinghens\\_en.pdf](http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/monitoring_zoonoses/reports/report_finlayinghens.Par.0001.File.dat/zoon_report_ej97_finlayinghens_en.pdf)
- Todd ECD (1996) Risk assessment of use of cracked eggs in Canada. *International Journal of Food Microbiology*, 30, pp: 125-143.
- UE (2002). Reglamento (CE) nº 178/2002 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 (2005). Reglamento (CE) nº 2073/2005, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DO L 3338 de 22 de diciembre de 2005. pp: 1-26.
- Disponible en: <http://www.boe.es/doue/2005/338/L00001-00026.pdf>.
- Corrección de errores en DO L 278 de 10 de octubre de 2006. pp: 32.
- Disponible en: <http://www.boe.es/doue/2006/278/L00032-00032.pdf>.
- UE (2006). Reglamento (CE) nº 1028/2006, de 19 de junio de 2006, sobre las normas de comercialización de los huevos. DO L186 de 7 de julio de 2006. pp: 1-5.
- UE (2007a). Reglamento (CE) nº 557/2007, de 23 de mayo de 2007, por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 1028/2006 del Consejo, sobre las normas de comercialización de los huevos. DO L132 de 24 de mayo de 2007. pp: 5-20.
- UE (2007b). Reglamento (CE) nº 1237/2007, de 23 de octubre de 2007, por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo y la Decisión 2006/696/CE por lo que respecta a la comercialización de huevos procedentes de manadas de gallinas ponedoras infectadas por *Salmonella*. DO L 280 de 24 de octubre de 2007. pp: 5-9.

## Colaboración

# Envasado a vacío y en atmósfera modificada y utilización potencial de los envases activos e inteligentes en la carne de aves

M<sup>ª</sup> Luisa García López

*Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. 24071 León*

## Resumen

Recientemente se ha producido una gran evolución de los sistemas de envasado para alimentos.

En el presente informe se lleva a cabo una revisión de los diferentes tipos de envasado, de sus características y usos, así como de las implicaciones microbiológicas.

## Palabras Clave

Sistemas de envasado, envase-envoltorio, envase activo, envase inteligente, envasado a vacío, envasado en atmósfera modificada.

## Vacuum and modified atmosphere packaging and the potential use of active and intelligent packaging for poultry meat.

## Abstract

There have been major recent advances in food packaging systems.

The present report reviews the different types of packaging and their characteristics and uses, as well as their microbiological implications.

## Key Words

Packaging systems, package - wrapping, active packaging, intelligent packaging, vacuum packaging, modified atmosphere packaging.



## Introducción

En las últimas décadas, los sistemas de envasado para alimentos han ido evolucionando como respuesta a las exigencias de los consumidores (en cuanto a caducidad, conservación de sus propiedades, frescura, apariencia, etc.) y a los cambios en el estilo de vida (mayor demanda de productos cómodos de consumir y semielaborados). También la globalización de mercados ha impuesto exigencias mayores sobre la frescura y durabilidad de los alimentos. Por esta razón, el envasado de los alimentos ha evolucionado desde el envase-envoltorio, que constituye la unidad de venta y protege e identifica el producto, hasta los envases activos e inteligentes pasando por el envasado a vacío y en atmósfera modificada.

## Envasado a vacío y en atmósfera modificada

Los sistemas tradicionales de envasado en condiciones reducidas de oxígeno son el envasado a vacío (VP) y el envasado en atmósfera modificada (EAM). El **envasado en atmósfera modificada** implica la eliminación de aire del interior del envase y su sustitución por un gas o mezcla de gases ( $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $N_2$ , etc.), dependiendo del tipo y la concentración de gases del producto a envasar. El **envasado a vacío** supone únicamente la eliminación del aire pero en el caso de la carne, el empleo de películas de baja permeabilidad y la respiración tisular y microbiana determinan que, al cabo de cierto tiempo, el oxígeno residual sea sustituido por  $CO_2$  (10-20%).

Las ventajas del envasado de la carne en estas condiciones son:

- Notable incremento de la vida útil.
- Menores pérdidas de peso por evaporación.
- Transporte y almacenamiento más higiénicos.
- Eliminación del goteo y de los olores desagradables.
- Mejor presentación y mayor posibilidad de examinar el producto.
- Menos desechos y reducción de costes por mano de obra durante la venta.
- Ventajas económicas por reducción de peso y espacio durante la distribución.
- Ampliación de las áreas de distribución.

## Envasado activo y envasado inteligente

Los sistemas tradicionales (VP y MAP) tienen limitaciones y, por ello, a partir de los años 80, se vienen desarrollando nuevos sistemas que han sido denominados envasado activo y envasado inteligente.

El **envasado activo** tiene como finalidad incrementar el tiempo de conservación de los alimentos y preservar o potenciar sus propiedades organolépticas. Para ello se liberan sustancias de interés (antimicrobianos, antioxidantes, aromas) y/o se retiran compuestos indeseables (oxígeno, etileno, olores) del producto envasado o de su entorno.

Algunas de las ventajas que ofrecen los envases activos en sus diferentes manifestaciones son:

- Capacidad de respuesta del envase frente a los cambios que en él se producen.
- Realización de operaciones como calentamientos, enfriamientos, o fermentaciones, que se pueden ya realizar dentro del mismo envase.

- Reducción del empleo de aditivos o conservantes que pueden incorporarse en el mismo envase.
- Reducción de costes si se compara con el envasado en atmósfera modificada, ejerciendo un control de ésta en productos individuales.

Un **envase inteligente** se define como aquel que monitoriza las condiciones del alimento envasado dando información sobre la condición del mismo durante el transporte y el almacenamiento.

Entendiendo por condición del alimento:

- Procesos fisiológicos (respiración de frutas y verduras frescas).
- Procesos químicos (oxidación de lípidos).
- Procesos físicos (endurecimiento de pan, deshidratación).
- Aspectos microbiológicos.
- Infestación (por insectos).

Los dispositivos de envasado inteligente son capaces de registrar y suministrar información relativa al estado del envase y del producto (integridad, rotura del precinto, calidad, seguridad), y se utilizan en aplicaciones tan diversas como: demostración de la autenticidad de un producto, antirrobo, trazabilidad, etc.

Tanto el envasado activo como el envasado inteligente se emplean frecuentemente en países como Japón y Australia. Sin embargo, en Europa, su empleo es limitado probablemente debido a:

- Restricciones legislativas aunque el Reglamento (CE) nº 1935/2004 (UE, 2004) ya los contempla.
- Falta de conocimiento sobre la aceptación del consumidor, la eficacia de los sistemas y el impacto económico y medioambiental.

## Sistemas activos

Los sistemas activos pueden ser clasificados en absorbedores y emisores. Los absorbedores eliminan sustancias no deseadas como oxígeno, exceso de agua, etileno, dióxido de carbono, olores, sabores y otros componentes específicos de los alimentos.

Los emisores aportan activamente al alimento envasado sustancias como dióxido de carbono, agua, antioxidantes o conservantes.

Existen dos formas de aplicar el componente activo al envase:

### Componente activo en el interior del envase

El uso de pequeñas bolsas o sobres que contienen el principio activo (sustancias que actúan absorbiendo oxígeno, CO<sub>2</sub>, humedad, etc.) constituyen el sistema más desarrollado y utilizado hasta la actualidad. Estas bolsitas están fabricadas con un material permeable que, por una parte, permite actuar al compuesto activo y, por otra, impide el contacto del mismo con el alimento. Estos dispositivos deben ser resistentes a las roturas y además ir convenientemente etiquetados para evitar que se ingiera su contenido.

### Componente activo incluido en el material del envase

Como alternativa al uso de bolsas se están desarrollando materiales para envasado, películas sintéticas y comestibles, que contienen el principio activo en su estructura (aditivos, agentes antimicrobianos, enzimas, etc.). Se basan en fenómenos deseables de migración ya que ceden al producto envasado sustancias beneficiosas.

Como ventajas de esta técnica cabe destacar que se consigue que toda la superficie del componente activo entre en contacto con el producto y que el consumidor no encuentre ningún elemento extraño en el producto adquirido.

### Tipos de sistemas activos

#### Absorbedores de oxígeno (*"scavengers"*)

El oxígeno presente en los envases alimentarios puede acelerar el deterioro de muchos alimentos. Este oxígeno puede derivar de:

- Una elevada permeabilidad del material del envase.
- Aire retenido en el alimento o en el material del envase.
- Pequeñas filtraciones debidas a un sellado no eficaz y una evacuación inadecuada.
- Flujos de gas.

Un absorbedor de oxígeno es una sustancia que absorbe eficazmente este gas del medio en el que se encuentra. Su aplicación elimina el oxígeno que está en contacto con el alimento.

Las principales ventajas de su aplicación son:

- Control de la alteración de grasas y aceites.
- Eliminación de coloraciones anómalas.
- Control de mohos.
- Control de bacterias aerobias.
- Preservación del sabor y características propias del producto.
- Preservación de nutrientes sensibles al oxígeno.
- Extensión de la vida útil.

En general, los absorbedores de oxígeno se basan en uno o varios de los siguientes mecanismos:

- Poder oxidante del hierro.
- Oxidación del ácido ascórbico.
- Oxidación fotosensitiva.
- Oxidación enzimática.
- Sales ferrosas.
- Ácidos grasos insaturados.

Las aplicaciones más frecuentes son para: pan, pasteles, arroz cocido, galletas, pizzas, pasta, queso, carnes, pescados curados, café, aperitivos, alimentos secos, bebidas, etc.

#### Absorbedores de dióxido de carbono

La presencia de dióxido de carbono en el espacio de cabeza del envase es interesante por su actividad antimicrobiana. Sin embargo, el CO<sub>2</sub> difunde a través del material de envasado entre 2 y 6 veces más rápido que otros gases protectores.

Los generadores de dióxido de carbono contienen bicarbonato sódico como principio activo. Producen este gas de manera continua y así mantienen en el interior del paquete la concentración necesaria para inhibir la proliferación de microorganismos. Su utilización se limita a determinados alimentos como algunas carnes frescas, pescados y quesos. Esto se debe a que cantidades elevadas de

CO<sub>2</sub> pueden causar alteraciones en el sabor y la textura, problemas de exudado, daños fisiológicos en los vegetales frescos, etc.

### Absorbedores de etileno

En general, los absorbedores de etileno se utilizan para el envasado de frutas, verduras y otros productos hortofrutícolas.

Los sistemas más usuales de absorción de etileno son:

- Permanganato potásico (KMnO<sub>4</sub>) inmovilizado sobre sustrato mineral inerte como perlita, alúmina, zeolita, carbón activo, gel de sílice, cristobalita. El KMnO<sub>4</sub> actúa oxidando el etileno a etilenglicol y éste a CO<sub>2</sub> y agua.
- Metales catalizadores (paladio, etc.) sobre carbón activo, éste absorbe al etileno y el catalizador lo degrada.

### Controladores de humedad

Un controlador de humedad es un sistema capaz de regular el contenido en agua líquida o gaseosa en la atmósfera que rodea al alimento dentro del envase.

La humedad dentro del envase generalmente favorece el crecimiento de microorganismos a la vez que empaña el envase. También es responsable del humedecimiento de alimentos con baja a<sub>w</sub> como galletas, pasteles, leche en polvo, café instantáneo, etc. Por otro lado, una excesiva evaporación del agua a través del envase puede causar una desecación en los alimentos y favorecer la oxidación de lípidos.

Existen varios sistemas de regulación del contenido de humedad en los alimentos envasados.

#### 1. Absorbentes de humedad

Polímeros absorbentes y granulares (sales de poliacrilato, amidas modificadas o copolímeros de almidón).

#### 2. Plásticos con aditivos antivaho

Etoxilatos no iónicos o monoglicéridos

#### 3. Reguladores de humedad

Los propios materiales de envasado que contienen compuestos absorbentes en su estructura como el propilenglicol, sustancia absorbente protegida por dos capas de plástico (polivinilalcohol) muy permeables al vapor de agua.

Sobres en los que la materia activa puede ser gel de sílice, óxido de calcio o algunas sales de cloruro sódico, existiendo también etiquetas con la misma función.

#### 4. Películas comestibles

Generalmente se utilizan en forma de ceras para evitar la deshidratación de frutas y hortalizas y mejorar la apariencia comercial.

También se pueden utilizar películas mixtas a base de derivados de celulosa, gomas, gluten, almidón, combinados con otras sustancias.

Los sistemas de control de la humedad son frecuentemente utilizados en el envasado de pescados, carnes, pollos, aperitivos, cereales, alimentos secos y liofilizados, sándwiches, frutas y verduras.

### Absorbedores de olores sabores

Son sustancias empleadas para eliminar efectos indeseables en los alimentos envasados tales como el olor, el sabor o el aspecto.

Hasta el momento, sólo unos pocos materiales han sido usados comercialmente para eliminar componentes de olor o sabor no deseables en los alimentos, existen varios ejemplos:

- Triacetato de celulosa.
- Papel acetilado.
- Ácido cítrico.
- Sal ferrosa, ascorbato.
- Carbón activo, arcillas zeolitas.

La inclusión de triacetato de celulosa en el material de envase para zumos, elimina componentes amargos debidos a la limonina o la naranjina que se forma durante la pasteurización del zumo.

Otros mecanismos son capaces de eliminar los aldehidos (hexanal, heptanal) internos en el envase. Una aplicación potencial es la eliminación de aminas biógenas.

Los sistemas citados se utilizan para alimentos como zumos de frutas, pescados, cereales, aves, frutas o productos lácteos.

Cabe destacar que el Reglamento (CE) nº 1935/2004 limita el uso de los absorbedores de olores y sabores, indicando que estos no deben alterar la composición o las propiedades organolépticas de los alimentos, ni dar una información sobre el estado de los alimentos que pueda inducir a error a los consumidores.

### Liberadores de sistemas antimicrobianos

Los sistemas antimicrobianos son sistemas capaces de liberar sustancias que actúan de forma efectiva sobre los agentes microbianos que pueden influir negativamente sobre los alimentos envasados. Pueden dividirse en dos tipos: los que contienen un sistema antimicrobiano que migra intencionadamente a la superficie del alimento, y los que son efectivos sobre el crecimiento en la superficie del alimento sin migración intencionada del agente activo al alimento.

Podemos hacer uso de compuestos con acción antimicrobiana: etanol, dióxido de azufre, dióxido de cloro, ácidos orgánicos, aceites esenciales, compuestos quelantes (EDTA), enzimas (glucosa oxidasa, muramidasa), bacteriocinas, antibióticos y fungicidas.

Las dos aplicaciones más comunes en envase antimicrobiano son:

- Liberadores de etanol.
- Liberadores de dióxido de carbono.

Las aplicaciones más usuales son para pizzas, tartas, pan, galletas, café, pescados y carnes frescas, nueces y aperitivos, y pasteles.

### Otros sistemas activos

Existen otros sistemas menos habituales de envasado activo como:

- Antioxidantes.
- Sistemas para microondas.
- Generadores de frío/calor.

- Absorbedores UV.
- Compensadores de temperatura.

## Sistemas inteligentes

Como “envases inteligentes” se consideran aquellos que utilizan propiedades del alimento o de algún material del envase como indicadores del historial y calidad del producto. Muchos de los indicadores inteligentes existentes son de gran utilidad para la industria alimentaria, entre ellos tenemos: indicadores tiempo-temperatura, indicadores de integridad del envase, indicadores de crecimiento microbiano o indicadores de autenticidad del envase. Existen muchos de estos sistemas patentados, pero solo unos pocos son comercialmente activos, sobre todo los indicadores de tiempo-temperatura.

### Indicadores tiempo-temperatura

Un indicador tiempo-temperatura se puede definir como un dispositivo pequeño, simple y barato, en forma de adhesivo, que muestra una dependencia tiempo-temperatura fácilmente mensurable, correlacionando un cambio irreversible en el dispositivo con un cambio de calidad de un producto alimenticio que es sometido a un exceso de temperatura.

Actualmente, los indicadores disponibles en el mercado pueden agruparse en tres categorías:

- Los Indicadores de temperatura crítica (CTI) dan respuesta sólo si una temperatura de referencia a la cual fueron programados es sobrepasada en algún punto de la cadena de distribución.
- Los Indicadores tiempo-temperatura crítica (CTTI) que muestran una respuesta mediante un cambio de color que refleja el efecto tiempo-temperatura acumulado sobre una temperatura crítica.
- Los indicadores o integrados tiempo-temperatura (TTI) miden tanto la temperatura como el tiempo y los integran en un solo resultado visual.

Estos indicadores se utilizan en Estados Unidos para una gran cantidad de alimentos frescos como carnes y preparados cárnicos. En Europa se han aplicado para una gama de productos de una gran calidad, presentándose como un concepto nuevo de mercado especializado.

### Indicadores de fuga (*LI-Leak indicators*)

Los indicadores de oxígeno y dióxido de carbono pueden ser usados para monitorizar la calidad de los alimentos. Pueden utilizarse como indicadores de fugas o para verificar la eficiencia de, por ejemplo, un absorbedor de oxígeno. Muchos de estos indicadores adquieren un cambio de color como resultado de una reacción química o enzimática (el tinte más utilizado para indicadores de fuga es el azul de metileno, cuyo cambio de color está basado en una reacción de oxidación-reducción).

En Japón son muy usados los indicadores de oxígeno con muchos alimentos frescos o preparados, envasados con un absorbedor de oxígeno en un envase transparente de plástico o cristal. Los indicadores de dióxido de carbono empiezan ahora a ser comerciales.

### Indicadores de frescura

Un indicador ideal para el control de la calidad de los alimentos envasados sería aquel que indicara el deterioro o la falta de frescura del producto, además del exceso de temperaturas o las fugas del

envase. Existen numerosas patentes en las que se describen mecanismos de indicación de frescura basados en la detección de metabolitos volátiles producidos por el envejecimiento de alimentos tales como dióxido de carbono, diacetatos, aminas (del pescado), amoníaco y sulfuro de hidrógeno.

### Otros sistemas inteligentes

Otras tendencias en el envasado inteligente son aquellas relacionadas con componentes electrónicos inteligentes que aportan información sobre la identificación del producto, fecha de envasado, precio, etc., y, además, función tiempo-temperatura, fugas y/o indicador de frescura.

Otros sistemas inteligentes menos usuales son:

- Sensores de color.
- Indicadores de golpes.
- Etiquetas RF (Radio Frecuencia).
- Sensores de autenticidad.

## Microbiología

El envasado en condiciones reducidas de oxígeno impide el crecimiento de la flora aerobia (*Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, etc.) responsable de la alteración de la carne mantenida en aerobiosis. Esta flora es sustituida por bacterias acidolácticas y otros microorganismos cuya capacidad alterante es mucho más reducida y, por este motivo, su vida útil se prolongará notablemente. Además, la ausencia de oxígeno tendrá un efecto beneficioso en la prevención del enranciamiento. Así mismo, se inhibirá la multiplicación de las bacterias patógenas aerobias estrictas aunque no restringirá la multiplicación de las anaerobias ni de las anaerobio-facultativas.

El comportamiento de las bacterias patógenas en los alimentos depende de una serie de parámetros interrelacionados tales como la temperatura de almacenamiento, la composición de gases en la atmósfera y la flora competitiva (Farber, 1991) (Samelis et al., 2000). En relación con la temperatura, parece evidente que el frío impedirá el crecimiento de las bacterias mesófilas. Sin embargo, tanto durante el almacenamiento como durante la distribución y venta existen oportunidades para su multiplicación debido a fallos en la cadena del frío y a fluctuaciones asociadas al funcionamiento de las cámaras frigoríficas como puede ser el desescarche. Estas fluctuaciones afectarán también al comportamiento de las bacterias psicrotrofas tanto patógenas como alterantes. Cuando se trata de productos mantenidos en atmósferas reducidas, una preocupación adicional es el efecto que sobre los patógenos pueden ejercer el prolongado almacenamiento y la flora que se desarrolla en el producto (Tamplin, 2002). El empleo del frío durante el almacenamiento, controlará el crecimiento de la mayoría de estas últimas aunque algunas como *Aeromonas* spp., *Yersinia enterocolitica* y *Listeria monocytogenes* son capaces de multiplicarse en alimentos envasados a vacío y en atmósferas modificadas y mantenidos a refrigeración. Es evidente, pues, la necesidad de determinar el tipo y la concentración de gases que garanticen la seguridad de la carne de ave envasada en atmósfera modificada. Por otra parte, el éxito comercial del envasado en atmósfera modificada dependerá de otros factores como son: el pH de la carne y su carga microbiana inicial, la capacidad de retención de agua y el color que es una preocupación mayor en el caso de la carne de los animales de abasto.

## Agradecimientos

El presente trabajo ha sido financiado por el convenio SGCO/0152/2006 de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN).

## Referencias

- Farber, J. M. (1991). Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology - a review. *Journal of Food Protection*, 54(1), pp: 58-70.
- Samelis, J., Kakouri, A. y Rementzis, J. (2000). Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4°C. *Food Microbiology*, 17(3), pp: 329-340.
- Tamplin, M. L. (2002). Growth of *Escherichia coli* O157:H7 in raw ground beef stored at 10°C and the influence of competitive bacterial flora, strain variation, and fat level. *Journal of Food Protection*, 65(10), pp:1535-1540.
- UE (2004). Reglamento (CE) nº 1935/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de octubre de 2004, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos y por el que se derogan las Directivas 80/590/CE y 89/109/CE. DO L 338 de 13 de noviembre de 2004. pp: 4-17.

# Comprobación de la efectividad de los métodos de higienización de la carne de ave y derivados mediante modelos matemáticos y su repercusión en la Evaluación Cuantitativa del Riesgo Microbiano

Gonzalo Zurera Cosano

Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Córdoba. 14014 Córdoba

## Resumen

En el presente documento se señalan las limitaciones de los sistemas de prevención y control de las enfermedades de transmisión alimentaria por consumo de carne de ave y productos derivados, que hacen necesaria la búsqueda de nuevas estrategias de gestión de la seguridad alimentaria. Entre éstas se incluyen novedosos enfoques para la gestión de la seguridad alimentaria, la definición de nuevos conceptos y la valoración de la eficacia de los diferentes procesos para la higienización de la carne de ave, tomando como referencia el procesado térmico. Igualmente se señalan las necesarias regulaciones y/o guías que deberán seguir los fabricantes y consumidores para alcanzar un nivel específico de letalidad en el procesado industrial y/o cocinado doméstico de carne de ave y productos derivados. Esta propuesta se describe en términos de probabilidad de supervivencia (o equivalentemente, el número de reducciones logarítmicas) de los microorganismos de mayor interés en carne de ave y derivados (*Salmonella* spp., y otros menos resistentes al calor como *Campylobacter* spp. o el virus de la gripe aviar tipo A (H5N1)), que pueden estar presentes en las materias primas que serán sometidas a distintos sistemas de procesado industrial y/o doméstico. También se describe en términos de letalidad requerida del proceso, que junto a otros factores influirá sobre el nivel de riesgo de salud pública asociado al consumo de estos productos. Se discuten diferentes aproximaciones a la Evaluación Cuantitativa del Riesgo Microbiano (ECRM) desarrolladas en los últimos años, que tratan de modelar la transferencia de estos microorganismos en la cadena producción-consumo y la estimación del riesgo sobre la salud pública asociado al consumo de carne de ave y productos derivados en función de diferentes factores. Se describen los diferentes tipos de modelos, entre ellos los modelos conocidos como tipo “desde la granja a la mesa”, describiendo los cambios en la prevalencia y concentración de los microorganismos patógenos de mayor interés en las diferentes etapas de la cadena producción-consumo, con objeto de encontrar la estrategia de mitigación del riesgo más eficiente para reducir riesgos de salud pública.

## Palabras Clave

Higienización, carne de ave, modelo matemático, evaluación cuantitativa, riesgo microbiano.

## Verification of the effectiveness of methods for sanitising poultry meat and poultry products using mathematical models, with consequences for Quantitative Microbial Risk Assessment.

### Abstract

The present report shall indicate what limitations in prevention/control systems for diseases transmitted through consumption of poultry and poultry products make it necessary to investigate new food safety management strategies. These include new approaches to food safety management, the definition of new concepts and the assessment of the effectiveness of different poultry meat sterilisation techniques, using thermal processing as a reference. Likewise, we will indicate the necessary regulations and /or guides that processing plants and consumers should follow in order to reach a specific level of sterilisation in poultry and derived products during industrial processing and/or cooking in the home. This proposal is described in terms of probability of survival (equal to the number of logarithmic reductions) of those micro-organisms of greatest concern in poultry and poultry products (*Salmonella* spp. and others less resistant to heat such as *Campylobacter* spp. or the avian influenza A virus (H5N1)), that may be present in the raw product that will be treated by different systems of industrial and/or domestic processing. It is also described in terms of the sterility required by the process, which, along with other factors, will affect the level of risk to public health associated with the consumption of these products. Different, recently developed approaches to Quantitative Microbial Risk Assessment are discussed, which attempt to model the transmission of those micro-organisms along the production-consumption chain, as well as to assess the risk to public health associated with the consumption of poultry meat and poultry products according to different factors. Different types of models are described, including those known as "farm to table" models, which indicate changes in prevalence and concentration of those pathogenic micro-organisms of greatest concern along the different links of the production-consumption chain, with the goal of finding the most effective risk mitigation strategy for reducing public health hazards.

### Key Words

Sterilisation, poultry meat, mathematical model, quantitative assessment, microbial risk.

## Introducción

Más allá de las fronteras nacionales, las enfermedades de transmisión alimentaria también constituyen una preocupación de salud pública. La OMS ha destacado que en países desarrollados hasta un 30% de la población sufre enfermedades transmitidas por alimentos. En países en vías de desarrollo es bien conocido, a pesar de la ausencia de estadísticas fiables, que la incidencia de estas enfermedades es aún mayor; y además, casos que en países desarrollados no supondrían ningún problema para los sistemas de atención primaria, en estos países pueden conducir irremediablemente a la muerte.

El sector agroalimentario es una de las principales fuentes económicas de la Unión Europea con una producción anual valorada en casi 600.000 millones de euros, es decir, cerca del 15% de la producción industrial total. Esta industria es el tercer mayor empleador en el sector industrial, y ocupa a más de 2,6 millones de empleados, un 30% de los cuales trabajan en pequeñas y medianas empresas. Por otro lado, el sector agrícola tiene una producción anual de cerca de 220.000 millones de euros y proporciona el equivalente a 7,5 millones de puestos de trabajo a tiempo completo. Las exportaciones de productos alimenticios y bebidas ascienden a 50.000 millones de euros al año.

La globalización de mercados y la cada vez más compleja cadena alimentaria han posibilitado que los agentes infecciosos puedan difundirse desde su localización original durante la elaboración y empaquetado hasta lugares situados a miles de kilómetros de distancia. Así mismo, los últimos brotes de origen alimentario producidos en Europa han demostrado una aparente debilidad de los sistemas de aseguramiento alimentario basados en el Control Oficial y en la aplicación de Buenas Prácticas Higiénicas, provocando una falta de confianza del consumidor.

A través del libro blanco, la UE estableció las líneas básicas para el desarrollo de las políticas alimentarias en los siguientes años, apoyándose en dos pilares básicos: la aplicación de sistemas de autocontrol (APPCC, Planes Generales de Higiene, etc.) lo cual desplazaría la responsabilidad del control del Riesgo hacia la empresa alimentaria, y el establecimiento del Análisis del Riesgo (AR) como un sistema de gestión del riesgo alimentario para gobiernos y organizaciones internacionales en el desarrollo de sus políticas de seguridad alimentaria (FAO/WHO, 1995).

## Peligros microbiológicos en carne de ave y productos derivados

*Salmonella spp.* y *Campylobacter* son los microorganismos de mayor incidencia en carne de ave y a la vez responsables de la mayor parte de enfermedades gastrointestinales al año en la UE. Datos de la EFSA (2006) destacan la Campylobacteriosis como la zoonosis transmisible más frecuente en humana en la UE. Los casos originados por *Campylobacter* incrementaron un 7,8% con respecto al año anterior, lo que supone una incidencia de 51,6 casos por 100.000 habitantes y un total de 197.363 casos reseñados. La Salmonelosis quedó como la segunda zoonosis más frecuente con 171.775 casos reseñados en humana con una incidencia del 38,2%, lo que supone una disminución del 9,5% con respecto a los datos de 2004. Entre los alimentos, la mayor proporción de *Campylobacter* fue reseñada para carne fresca de ave, donde el 66% de las muestras fueron positivas. *Salmonella* fue reseñada en carne fresca de ave y de cerdo con un 18% de muestras positivas.

En el año 2005 (EFSA, 2006) se remitieron informes de 23 países miembros, reportando 5.311 brotes de toxiinfección alimentaria, involucrando a un total de 47.251 personas, de las que 5.330 necesitaron hospitalización y 24 murieron. Se produjo un descenso de un 22% en el número de brotes con respecto al año 2004. Sin embargo el número de casos experimentó un aumento del 10% con respecto al año 2004.

Al igual que en el año 2004, la causa más común de brotes reportados en la Unión Europea (EFSA, 2006) fue *Salmonella*, siendo los huevos y ovoproductos los alimentos más frecuentemente implicados en los brotes, aunque la carne de ave y derivados también fueron fuentes frecuentes de contaminación. La segunda causa más común de brotes en 2005 fue *Campylobacter*, siendo la carne de aves la principal fuente de infección.

La enfermedad causada por estos microorganismos tiende a ser más severa en jóvenes, ancianos o en personas con enfermedades inmunodepresivas. La capacidad infectiva de estos microorganismos tiende a aumentar conforme aumenta el tamaño del inóculo (dosis), aunque bajos inóculos son a veces capaces de causar enfermedad en humanos. La posibilidad de contaminación por estos patógenos a partir de la carne de ave, es muy variable y puede ocurrir en diferentes puntos durante la producción, sacrificio, procesado, preparación culinaria y consumo. Por estas razones, es evidente la relación entre estos microorganismos presentes en la carne de ave y la enfermedad en humana (Salmonelosis y Campylobacteriosis), por lo que se deben tomar determinadas acciones con objeto de reducir la posibilidad de causar enfermedad por estos microorganismos patógenos.

## 1. Salmonelosis

### Evaluación general de la situación nacional (EFSA, Report In 2004)

La salmonelosis es la principal zoonosis en España. En aves, después de la introducción en los años 60 de los métodos americanos de producción, la patología específica de salmonelosis era causada por *S. pullorum* y *S. gallinarum*. En los años 80 aparece *S. enteritidis* como agente causal de la gran mayoría de los brotes de salmonelosis asociadas al consumo de productos avícolas fundamentalmente. En el año 2005 se registró el mayor brote por *Salmonella* de la historia reciente en España, afectando a 2.759 personas infectadas por *S. Hadar*, asociando el brote al consumo de pollo precocinado, envasado al vacío de una marca concreta (EFSA, 2006).

Las fuentes de infección están extendidas a lo largo de la cadena alimentaria: comidas, alimentos (huevos y ovoproductos, carne), animales y humanos pueden ser fuente de infección. A nivel del animal, los datos en las granjas de cría en 2004 mostraban un predominio de salmonelas zoonóticas (*Enteritidis* y *Typhimurium*) de 6,6% en todos los grupos de edad de todas las líneas de producción (pero 0% en la línea de producción de huevo).

A nivel humano, entre 1998 y 2002, se produjeron 1.740 brotes asociados con huevo consumido, y 358 en 2003. Estos datos indican que el predominio es constante y alto en España, y los brotes aparecen principalmente en verano, con incidencia más alta en esta estación.

La salmonelosis es una enfermedad notificable según establece el Real Decreto 2210/1995, por el que se crea la Red de Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

### **Relevancia de los resultados en animales, alimentos y en casos humanos (como fuente de infección)**

Es muy difícil establecer la relevancia de datos en los diferentes pasos de la cadena alimentaria como fuentes de infección, porque la epidemiología de la salmonelosis es muy compleja. No obstante, se enlazan los casos humanos principalmente a los huevos y el alimento proveniente del huevo consumido. Entre 1998 y 2001 se notificaron 3.818 brotes de enfermedades alimentarias en España, y el 38% (1.469) de ellos estaban asociados con huevos y ovoproductos. El 85,5% de estos 1.469 brotes fueron causados por *Salmonella*.

### **Acciones recientes tomadas para controlar la zoonosis**

El Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino y el Ministerio de Sanidad y Consumo están llevando a cabo un Programa de Control de *Salmonella* en huevos y ovoproductos a lo largo de la cadena alimentaria global, comenzando con sistemas de supervisión (Programa de Vigilancia Nacional). Un estudio básico en el predominio de *Salmonella* en las granjas de *Gallus gallus* se está llevando a cabo actualmente.

## **2. Campylobacteriosis**

### **Evaluación General de la situación nacional (EFSA, Report In 2004)**

*Campylobacter ssp.* es actualmente una de las causas más frecuentes de gastroenteritis humanas. Las aves domésticas son el reservorio principal, y la infección normalmente ocurre por el consumo de esta carne.

Hasta finales de los 60 no se estimaba la importancia de *Campylobacter ssp.* La notificación de la enfermedad estaba infravalorada en los sistemas de vigilancia. Las investigaciones epidemiológicas asociaban los casos de carne de ave consumida con una manipulación deficiente del alimento. El número de casos en España se mantiene de momento y se da en fabricantes aislados, que son notificados al Sistema de Información Microbiológica (SIM).

La carne de ave es la fuente principal de infección. En pollos broiler, un estudio de 2004 mostró el predominio a niveles del 90% de infección. Otros alimentos implicados son la carne roja, la leche cruda, los quesos no pasteurizados y el agua.

### **Relevancia de los resultados en animales, bebidas y comestibles en casos humanos (como fuente de infección)**

Es necesario desarrollar más estudios.

### **Acciones recientes tomadas para controlar la zoonosis**

Vigilancia de la zoonosis según la Directiva 2003/99/EEC (UE, 2003).

## **Sistemas de prevención y control**

Los programas de prevención se centran en el control del nivel de contaminación en las etapas críticas durante el sacrificio y el procesado como parte de la aplicación de los sistemas de autocontrol

(BPF, BPH y APPCC). Los programas de inspección convencionales no están diseñados para detectar estos dos importantes patógenos en carne de ave y productos derivados. Por lo tanto, es muy importante poder identificar la patogenicidad de estos microorganismos en carne de ave y determinar la exposición potencial a una dosis infectiva de cada uno de estos patógenos para evaluar el potencial impacto en la salud pública que pueda resultar como consecuencia de un fallo de control.

Los programas de vigilancia epidemiológica deben ser establecidos de forma que la incidencia de la enfermedad pueda ser relacionada con las estrategias de inspección. Esto requerirá medidas del nivel de estos patógenos en puntos de venta, así como el establecimiento de sistemas de vigilancia de la enfermedad entre poblaciones bien definidas. Igualmente es necesario desarrollar o intensificar programas de educación para personal en contacto con aves, en mataderos, en puntos de venta y durante la preparación culinaria tanto a nivel de consumo doméstico como restauración colectiva. Por otra parte, los productos cárnicos deben ser adecuadamente etiquetados, informando al consumidor cómo manipularlos para prevenir enfermedades producidas por estos microorganismos. Algunas propuestas de utilización de vacunas vivas y antimicrobianos en programas de control de *Salmonella* en aves, tienen poca justificación o han sido descartadas por diferentes razones (EFSA, 2004) y deberán ajustarse a los requerimientos fijados (UE, 2006). Por lo tanto, es clara la necesidad de minimizar la incidencia y/o concentración de estos microorganismos en la carne de ave y poder reducir el potencial infeccioso de los mismos por el consumo de estos productos.

Aún funcionando correctamente los sistemas de prevención y control, el número de brotes de toxoinfección alimentaria por consumo de carne de ave y sus derivados, continúa en una situación francamente mejorable. La actual situación promueve la necesidad de buscar alternativas que minimicen la presentación de dichos brotes en el marco de un sistema de gestión del riesgo alimentario aceptado internacionalmente como es el Análisis de Riesgos (FAO/WHO, 1995). Entre las alternativas, se destaca la búsqueda de nuevas estrategias de gestión de la seguridad alimentaria, incluyendo novedosos enfoques y la definición de nuevos conceptos y términos que permitan establecer la necesaria relación entre un determinado Nivel Adecuado de Protección (ALOP) y los Objetivos de Seguridad Alimentaria (FSO), que permitan fijar los Objetivos de Rendimiento (OR) en el procesado en la industria alimentaria (ILSI, 2004), y determinar los criterios de funcionamiento durante la aplicación de los diferentes procesos de higienización de la carne de ave; entre ellos:

- Procesamiento hidrostático a alta presión.
- Calentamiento óhmico.
- Impulsos de luz de gran intensidad (pulsos lumínicos).
- Pasteurización.
- Calor seco.
- Radiación ionizante.
- Procesamiento por microondas.
- Ultrasonidos.
- Envasado en atmósfera modificada (MAP), envasado activo y otras formas de envase.

La eficacia y seguridad de uso de estos métodos de higienización debe ser comprobada fehacientemente, para lo cual es necesaria la realización de pruebas de inoculación y comprobación del resul-

tado de la aplicación de los distintos procesos sobre los microorganismos patógenos de mayor interés. Una alternativa a esta laboriosa y compleja comprobación es la aplicación de modelos matemáticos en las etapas claves de cada uno de estos procesos y para cada uno de los microorganismos patógenos mencionados como base para la evaluación cuantitativa del riesgo por el consumo de estos alimentos y en el marco de un sistema de gestión del riesgo alimentario de aceptación internacional como es el Análisis de Riesgos.

## El Análisis de Riesgos

El Análisis de Riesgos según la FAO/WHO (1995) se compone de tres elementos: Evaluación del Riesgo (ER), Gestión del Riesgo (GR) y Comunicación del Riesgo (CR).

La ER es la evaluación científica de un conocido o potencial efecto adverso contra la salud resultado de la exposición humana a un peligro transmitido por los alimentos. Esta definición también incluye la Evaluación Cuantitativa del Riesgo (ECR) la cual ofrece una expresión numérica del riesgo, además de la expresión cualitativa del riesgo, así como una indicación de la incertidumbre asociada.

La variedad de conocimientos necesarios para conducir correctamente una ER exige la creación de un equipo multidisciplinar (microbiología, epidemiología, medicina, tecnología alimentaria, etc.) que pueda manejar apropiadamente la información científica disponible. La ER es un proceso llevado a cabo en cuatro fases (aplicable también a peligros químicos y físicos):

1. Identificación del Peligro (IP). Identificación de los conocidos o potenciales efectos sobre la salud asociados a un determinado agente (peligro).
2. Caracterización del Peligro (CP). Evaluación cuantitativa y/o cualitativa de la naturaleza de los efectos adversos de un determinado agente biológico, químico o físico que puede estar presente en alimentos.
3. Evaluación del Riesgo (ER). Evaluación cuantitativa y/o cualitativa del grado de ingesta de un peligro biológico o químico.
4. Caracterización del Riesgo (CR). Integración de las fases anteriormente citadas, esto es, identificación del peligro, caracterización del peligro y evaluación de exposición con el objeto de estimar la probabilidad de un efecto adverso en una población dada, incluyendo la incertidumbre asociada.

Este proceso, junto a sus resultantes es la base para el siguiente paso en el esquema de Análisis de Riesgos, esto es, la Gestión del Riesgo. La GR es definida por la propia FAO (1997) como el “proceso de ponderar las distintas políticas posibles a la luz de los resultados de la evaluación del riesgo y, si procede, elegir y aplicar opciones de control apropiadas, incluidas las medidas reglamentarias”. Así, dentro de este esquema, el *Codex Alimentarius* ha desarrollado su propio procedimiento para elaborar Estándares *Codex* (FAO/WHO, 2001).

La última componente del Análisis de Riesgos es la comunicación del riesgo definida como “el intercambio interactivo de información y opiniones sobre el riesgo entre los evaluadores del riesgo, los encargados de la gestión del mismo, los consumidores y otros interesados” (FAO/WHO, 1998).

Estas tres componentes deben estar separadas funcionalmente para evitar cualquier tipo de conflicto de interés. Sin embargo, debe ser considerado, al mismo tiempo, que el análisis de riesgos es un

proceso interactivo en donde la interacción entre asesor y gestor del riesgo es esencial en su aplicación práctica.

## La Evaluación del Riesgo Microbiano

Mediante la Evaluación del Riesgo Microbiológico (ERM) tratamos de estimar la probabilidad y severidad de adquirir una enfermedad alimentaria debido al consumo de un alimento o grupo de alimentos que son susceptibles de contaminación por un patógeno. Dentro de la ERM, la evaluación de la exposición estima la exposición de una población al patógeno; esto es, el número de patógenos (dosis) ingeridos con el alimento. Por tanto, si se quiere obtener una información exacta, habría que “quitar de las manos del consumidor” el producto y analizarlo; esto es, cuando menos, impensable. Sin embargo, las definiciones de ERM y evaluación de la exposición no se modifican pese a los impedimentos prácticos. El panorama que se le presenta al asesor del riesgo le obliga a tomar, por lo general, una de estas dos decisiones: *i)* asumir que los datos de concentración del patógeno en el alimento en un determinado momento a lo largo de la cadena “de la granja a la mesa” (p. ej., recién traído de la industria al punto de venta) son los mismos que en el momento de consumo; o *ii)* aplicar modelos predictivos adecuados en aquellas etapas de la cadena “de la granja a la mesa” en las que se modifique la concentración de patógeno en el alimento. La primera decisión es muy acertada cuando se demuestra que no existe crecimiento ni inactivación del patógeno previo al consumo del alimento. La segunda opción, la aplicación de modelos predictivos, es una práctica ampliamente extendida en todas las evaluaciones de riesgo cuantitativas disponibles

(<http://www.foodrisk.org/riskassessment.cfm>).

La secuencia de la evaluación de riesgo es la siguiente:

- 1) Calcular el nivel de contaminación (es decir, la concentración) de microorganismos en las materias primas (en carne y productos cárnicos de ave, *Salmonella/Campylobacter*).
- 2) Calcular la concentración de organismos supervivientes en el producto terminado, dado el nivel requerido de letalidad.
- 3) Ajustar la concentración de organismos supervivientes para cumplir con el nivel requerido de letalidad y cualquier factor de seguridad del proceso asociado con cualquier tratamiento aplicado de letalidad.
- 4) Estimar la magnitud de crecimiento microbiano (si lo hubiese) durante el almacenamiento.
- 5) Estimar la reducción en la población asociada con el recalentamiento del producto hecho por el consumidor.
- 6) Estimar la probabilidad de enfermedad por la dosis ingerida de patógenos.
- 7) Calcular el número esperado de casos de salmonelosis/campylobacteriosis para una cantidad fija de producto (un millón de kg) y para la cantidad de cada producto que se consume por año.
- 8) Estimar el riesgo para asunciones alternativas y explorar la susceptibilidad de la estimación de riesgo para varias variables importantes.

Para el desarrollo de la mayoría de estas etapas es necesaria la aplicación de modelos matemáticos que facilitan el cálculo y posibilitan la generación de diferentes supuestos o escenarios que tratan de reproducir las posibles situaciones reales con las que podemos encontrarnos. Se han desarrollado

herramientas de software para la evaluación del riesgo y para acomodar el alto nivel de variabilidad e incertidumbre (Nauta, 2001). Esto se consigue simplificando la asignación de características de factores de riesgo importantes a las categorías del producto (por ejemplo las fuentes de materia prima, el crecimiento potencial, las condiciones de almacenamiento, el patrón de recalentado, etc.). El modelo entonces calcula un nivel de riesgo compuesto de estas características. Estas herramientas proporcionan una representación transparente de suposiciones y su combinación, que son compatibles con los datos dispersos disponibles para asociar la estimación de riesgo con los productos cárnicos. La representación detallada y simulación de productos y procesos específicos, proporcionan una estimación de riesgo para una amplia variedad de carnes de ave y productos derivados que requieren una simplificación considerable del problema para hacer el análisis.

### Modelos matemáticos para la Evaluación del Riesgo Microbiano

Los modelos empleados en la Evaluación del Riesgo son múltiples y diversos. Entre todos ellos, destacamos los modelos de crecimiento, inactivación y supervivencia como la piedra angular en el desarrollo de la Evaluación Cuantitativa del Riesgo Microbiano (ECRM); de hecho un modelo de ECRM podría constar sólo de modelos de crecimiento e inactivación. Este tipo de modelos son el objeto principal de estudio en el área de la Microbiología Predictiva. A pesar de su temprano comienzo (Bigelow et al., 1920) como consecuencia del interés en producir alimentos enlatados “estériles”, sólo en los últimos 20 años se han obtenido los avances más significativos, que han puesto los modelos a disposición de industriales y de organismos oficiales para un mejor control de los procesos. Por otra parte, recientemente, en esta misma área han surgido otros tipos de modelos denominados “de contaminación cruzada”, que aunque presentan un menor desarrollo, si se ha comprobado su importancia en la determinación del riesgo para algunos patógenos y escenarios (Beumer y Kusumaningrum, 2003). Los modelos de contaminación cruzada, son modelos que tratan sobre la capacidad de transferencia de los microorganismos entre superficies o ambiente (alimentos, superficies de trabajo, aire, etc.) y el alimento (Pérez-Rodríguez et al., 2008).

A la hora de aplicar un modelo, se debe tener en cuenta el tipo de alimento, el o los microorganismos patógenos de mayor importancia en ese producto, su repercusión sobre la seguridad del producto final y la predicción que queremos obtener. ¿Cómo sabemos cuál es el mejor modelo? El mejor ajuste no siempre significa el mejor modelo. El mejor modelo será aquel que prediga mejor los valores reales.

Los modelos cinéticos de crecimiento predicen la evolución de los microorganismos en un medio en función de los factores que los afectan y a partir de los datos obtenidos, predecir lo que suceda durante el almacenamiento. Representando el logaritmo del recuento bacteriano ( $\log \text{ufc/g}$ ) frente al tiempo ( $t$ ), se obtiene una clásica curva sigmoideal, a partir de la cual se pueden calcular los principales parámetros que determinan el crecimiento microbiano, como la tasa de crecimiento ( $\mu$ ) y la fase de latencia, adaptación o “lag time” ( $\lambda$ ).

Los modelos probabilísticos enfocan su atención hacia aquellas condiciones en las cuales el microorganismo puede o no crecer. Este tipo de modelos permiten definir con cierta precisión la zona de crecimiento/no crecimiento de los microorganismos utilizando uno o más factores de forma controla-

da. La seguridad microbiológica de un alimento se debe conseguir manteniéndolo en condiciones que no permitan que exista crecimiento microbiano. Los modelos de probabilidad son particularmente útiles en el estudio del comportamiento de microorganismos patógenos o toxigénicos. Este tipo de modelos tiene un considerable beneficio para la industria agroalimentaria, ya que las condiciones estudiadas pueden ser aplicadas durante un proceso alimentario, o en la formulación de un nuevo producto, de forma que se minimice el riesgo de crecimiento o de un microorganismo patógeno (McMeekin et al., 2000). Los modelos probabilísticos, se utilizan para microorganismos cuya sola presencia constituye un riesgo.

Los modelos de supervivencia e inactivación van más encaminados a calcular el número de reducciones decimales o logarítmicas ( $1 \log = 10$  ufc/g) que supone un determinado tratamiento sobre el microorganismo conducente a su inhibición del crecimiento o eliminación. Concretamente, el valor  $D$  es el tiempo necesario para alcanzar una reducción decimal, aunque puede verse afectado por muchos factores que deben ser tenidos en cuenta (O'Bryan et al., 2006) Dichos modelos resultan particularmente útiles a la hora de comprobar la efectividad de un tratamiento térmico, la acción de conservantes u otros factores sobre el microorganismo objeto de estudio. Los principales modelos de inactivación o de muerte microbiana se presentan en las Tablas 1 y 2.

<b>Tabla 1. Modelos primarios usados para describir curvas de inactivación microbiana</b>		
<b>Modelo</b>	<b>Ecuación</b>	<b>Dónde</b>
Exponencial	$\log(n) = \log(n_0) - kt$	$n$ = recuento/g a tiempo $t$ ; $t$ = tiempo; $k$ = una tasa constante; $1/k = D$ = tiempo necesario para alcanzar una reducción decimal ufc/g.
Logístico	$\log(n) = \log(n_0) + \frac{a}{1 + \exp(b - ct)}$	$n$ = recuento/g; $n_0$ = recuento/g cuando $t$ = cero; $t$ = tiempo (horas); $a$ , $b$ y $c$ son los parámetros de ajuste; $t$ = tiempo (horas).
Weibull acumulativas	$s = \exp(-bt^n)$ o $\log(s) = -bt^n$	$s$ = fracción de supervivencia ( $n/n_0$ ) a tiempo $t$ ; $b$ = parámetro de escala; $n$ = parámetro de forma.
Gompertz	$L(t) = A + C \exp[-\exp(-B(t-M))]$	$L(t) = \log_{10}$ recuento bacteriano a tiempo $t$ ; $B$ = tasa de muerte máxima ( $h^{-1}$ ); $M$ = el tiempo al cual ocurre la tasa de muerte ( $h$ ); $A$ = máxima asíntota de $\log_{10}$ recuento bacteriano; $C$ = la diferencia entre $A$ y la más bajo asíntota de $\log_{10}$ recuento bacteriano.

Tabla 2. Ejemplos de modelos secundarios de parámetros de muerte microbiana.			
Modelo	Ecuación	Dónde	Comentarios
Polinomial	$C_0 + C_1 V_1 + C_2 V_2 + C_3 V_1 V_2 + C_4 (V_1)^2$	Todos los C son constante y los V son variables.	Modelo fácil de aplicar por regresión lineal múltiple. No existe significado biológico para los parámetros.
Tipo Arrhenius	$k = A \exp(-E_a/RT)$	k es la constante de tasa de muerte; A es el factor de colisión; $E_a$ es la energía de inactivación del sistema; R es la constante universal de los gases (J/mol/K); T es la temperatura en Kelvin.	Los parámetros no tienen significación biológica. Ha sido adaptado para otros parámetros, como por ej. pH. No predice valores limitantes para las variables.
Concepto z	$z = \frac{T_2 - T_1}{\log D_{T1} - \log D_{T2}}$	z es la temperatura para un cambio decimal en el valor D; D es el tiempo necesario para obtener una reducción decimal en los supervivientes; $T_1$ es la temperatura más baja; $T_2$ la temperatura más alta.	Asume una cinética de primer orden.

### Contexto de la Evaluación del Riesgo Microbiano asociado al consumo de carne de ave sometida a diferentes tratamientos tecnológicos

El riesgo asociado con los patógenos ingeridos a través de la carne de ave puede surgir por diferentes vías de exposición (FSIS/USDA, 2005):

- Patógenos que contaminan materias primas y sobreviven al efecto letal del procesado.
- Patógenos que contaminan los productos después del procesado (por ejemplo durante la manipulación, antes de o durante el envasado).
- Patógenos que contaminan la carne y los productos durante la manipulación y la preparación del alimento.

La valoración del riesgo sólo se verá afectada con la variación en el número de casos de salmonellosis o campylobacteriosis que sería el resultado de cambiar el grado de letalidad requerida en los tratamientos higienizantes de la carne de ave. Por consiguiente, sólo se verá afectada la primera de las vías de exposición listadas anteriormente. Mientras las otras dos vías contribuyen al riesgo de salud pública total asociado con estos productos. El nivel de riesgo asociado con estas últimas vías no es sensible a cambios en la cuantía de letalidad. Por ejemplo, aumentando la letalidad normal de una reducción de 5-log a una reducción de 6-log no tiene impacto en el riesgo asociado con la recontaminación post-proceso del producto.

El riesgo sobre la salud pública asociado al consumo de carne de ave es estimado mediante la combinación de los siguientes factores:

- Nivel de contaminación de materias primas.
- Efecto letal requerido.
- La capacidad de alcanzar dicho efecto.
- Los factores de seguridad del proceso aplicado.
- Condiciones de almacenamiento del producto y el crecimiento potencial de los organismos supervivientes.
- La frecuencia y magnitud del recalentado del consumidor.
- La cantidad de producto consumida.

Con el presente documento se señalan las necesarias regulaciones y/o guías que deberán seguir los fabricantes, cocineros y consumidores para alcanzar un nivel especificado de letalidad en el procesado de carne de ave y productos derivados. Esta propuesta se describe en términos de probabilidad de supervivencia de *Salmonella spp.* o *Campylobacter spp.* (o equivalentemente, el número de reducciones logarítmicas) que pueden estar presentes en las materias primas que serán sometidas a distintos sistemas de procesado (Brown et al., 1998). Esta propuesta también puede estar en términos de letalidad requerida del proceso, que junto a otros factores influirá sobre el nivel de riesgo de salud pública asociado al consumo de estos productos (Oscar, 1998).

## 1. Efecto del procesado de letalidad estándar

Conocida la carga microbiana de un producto previa al procesado podemos estimar el efecto del procesado sobre la misma en términos de carga microbiana por unidad de peso ( $RL$ ), de forma que  $RL = PB - L$ , donde  $PB$  es la carga del patógeno en el producto sin procesar (en escala logarítmica), y  $L$  es el tratamiento de letalidad aplicado (en escala logarítmica). Se asume que la letalidad estándar es la letalidad exacta alcanzada en el proceso. El grado de conformidad con el estándar es el primer factor que puede alterar la letalidad efectiva, ya que nos describe la relación entre un estándar de funcionamiento y la letalidad alcanzada en la práctica.

Como ejemplo, consideremos un producto con dos componentes distintos A y B que contienen 1.000 microorganismos cada uno y reciben diferentes tratamientos. Para el A se obtiene un 0,1% de microorganismos supervivientes (es decir, un proceso de 3-log). Para el B se obtiene un 10% de microorganismos supervivientes (es decir, un proceso 1-log). Para cada componente puede aplicarse un cálculo binomial simple de modo que el A tendrá una media de 1 microorganismo superviviente y el B una media de 100 microorganismos. La media de microorganismos supervivientes en el producto completo (A+B) con 2.000 microorganismos será de 101; es decir, un ratio de reducción del 5,05%. En escala logarítmica esta reducción es de aproximadamente 1.3-log. Esta letalidad efectiva es considerablemente diferente a 2-log; letalidad que puede ser estimada tomando la media de los dos valores de letalidad simples (1-log y 3-log). Si se asumiera erróneamente que la letalidad efectiva es una reducción de 2-log, se generaría una estimación media del número de microorganismos supervivientes de 20 (es decir una subestimación del número de supervivientes por un factor de 5).

La letalidad efectiva  $L_{ef}$  (en unidades log) para un sistema heterogéneo, puede ser calculada mediante la siguiente ecuación:

$$L_{ef} = -\log_{10} (\sum f_i \cdot 10^{-S_i}) = -\log_{10} (f_1 \cdot 10^{-S_1} + f_2 \cdot 10^{-S_2} + \dots)$$

donde  $S$  representa el nivel de letalidad,  $f_i$  representa las fracciones (que deben sumar 1) para cada una de las unidades del sistema heterogéneo.

## 2. Aplicación de Factores de Seguridad del Proceso Térmico

Cuando la letalidad requerida del proceso térmico se define (o interpreta) como el requerimiento de alcanzar una reducción especificada del log en el punto más frío en el producto, esto produce una letalidad eficaz neta que es considerablemente superior a la letalidad definida. Esto es debido principalmente a la necesidad de transferencia de calor a través de y dentro del producto. Esto significa que la mayoría de la masa del producto experimentará un nivel muy superior de letalidad que en el punto más frío. En otros casos, las consideraciones de calidad del producto pueden dictar un nivel superior de letalidad de la que se requiere por la regulación.

El problema surge con la típica aplicación de un proceso para ajustarse a un estándar de letalidad de inactivación térmica que producirá una menor probabilidad de supervivencia para los patógenos. Por ejemplo, para la aplicación de un proceso que cumpla con el Standard de 5-log, los resultados en probabilidad de supervivencia suelen ser mucho más bajos que  $10^{-5}$ . Ignorando esta realidad, la valoración de riesgo podría sobreestimar el riesgo para ciertas clases de productos.

No hay ninguna evidencia directa disponible que nos detalle la proporción de la amplia variedad de procesos que se aplican en la producción de alimentos listos para el consumo (RTE) que podrían ser asociados con ciertas características de factores de seguridad. Además, los expertos en procesado están muy acostumbrados a diseñar y evaluar los procesos en base al cumplimiento, asegurando que los procesos satisfacen el criterio regulador específico, y no emplean el concepto de letalidad eficaz que se alcanza en el proceso si es anterior al criterio. Sin embargo, el riesgo de salud asociado con cualquier proceso es proporcional a la letalidad neta efectiva alcanzada, no al valor numérico del estándar que se aplica.

Los factores de seguridad del proceso térmico se usan para ajustar el nivel de letalidad para un producto dado. En ausencia de datos disponibles que habiliten una especificación detallada de los tratamientos de letalidad y simulaciones de las numerosas combinaciones alternativas de tratamientos que pueden aplicarse en la producción de cualquier producto RTE dado, no hay alternativas para aplicar estos factores de seguridad como elemento de juicio.

En términos de Gestión del Riesgo conviene fijar la letalidad requerida y el nivel de riesgo resultante para la salud pública. Para la evaluación del riesgo sería importante conocer el impacto de valores de letalidad sobre *Salmonella* diferentes al estándar (reducción de 6.5 unidades log para carne en general y 7.0 unidades log para carne de ave) sobre la salud pública por el consumo de carne de ave. Estos valores de letalidad serían perfectamente válidos para otros microorganismos patógenos de interés en estos productos, como *Campylobacter* y el virus de la gripe aviar tipo A (H5N1) que son menos resistentes al calor.

Un análisis llevado a cabo por el NACMCF (2007) determinó la letalidad del procesado de aves sobre *Campylobacter* spp., en comparación con *Salmonella* spp., estimando que un proceso de reducción de siete unidades log para *Salmonella* puede lograr más de 50-log reducciones para *Campylobacter*.

En base a un estudio de Juneja et al. (2001) realizado en carne de aves con un 6% de grasa, se asume que una reducción de siete unidades log para *Salmonella* se consigue mediante la aplicación de un tratamiento de 60° C/28,2 minutos o 71,1° C/15 segundos. Si el valor D para *Campylobacter* en pollo es de 0,33 minutos a 60° C y de 0,005 minutos a 71,1° C (Blankenship y Craven, 1982), podemos obtener reducciones de 85 y 50 unidades log respectivamente (NACMCF, 2007).

**Tabla 3.** Letalidad del procesado de aves

Temperatura del proceso (°C)	Tiempo del proceso	Reducción unidades log	
		<i>Salmonella</i>	<i>Campylobacter</i>
60° C	28,22 minutos	7	85
71,1° C	15 segundos	7	50

Un completo informe de la USDA (2005) publica los valores de tiempo/temperatura para el procesado de productos listos para el consumo a base de carne de pollo y pavo, dirigida fundamentalmente a los productores y está disponible en:

[http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FSISNotices/RTE\\_Poultry\\_Tables.pdf](http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FSISNotices/RTE_Poultry_Tables.pdf).

### 3 Efecto del crecimiento y de las condiciones de almacenamiento

Después del tratamiento de letalidad, una mayoría significativa de productos acabados no portarán *Salmonella*. Sin embargo, puede haber algunos productos que permanezcan contaminados con *Salmonella* que sobrevivió al tratamiento de letalidad. Los microorganismos contaminantes pueden crecer durante el almacenamiento, incrementando su número. Por lo tanto, el impacto sobre la salud pública sobre un cambio en la letalidad efectiva alcanzada es dependiente de las condiciones de almacenamiento que permitan el potencial crecimiento de los patógenos en el producto.

En la evaluación del riesgo llevada a cabo por el FSIS (2005) sobre el impacto de los tratamientos estándares de letalidad sobre *Salmonella* en productos cárnicos de ave, encuentran que para un producto que está inicialmente contaminado a un nivel por debajo de  $10^L$  por servicio, donde  $L$  es la letalidad del proceso a aplicar, la población microbiana estará lo suficientemente poco poblada en el interior del producto final como para que pueda estar distribuido un microorganismo superviviente en una ración individual contaminada. En la siguiente tabla se muestra un ejemplo de tamaño de servicio y el nivel de preletalidad y concentración de patógenos.

**Tabla 4.** Recuento medio de patógenos por servicio para un rango de concentraciones (UFC/G) y tamaño de servicio (g).

Concentración UFC/G	Tamaño del servicio (g)			
	1	10	100	1.000
0,001	0,001	0,01	0,1	1
0,01	0,01	0,1	1	10
0,1	0,1	1	10	100
1	1	10	100	1.000
10	10	100	1.000	10.000

En los mencionados escenarios, el número medio de patógenos por servicio antes del tratamiento de letalidad oscila entre  $10^{-3}$  a  $10^4$ . Un modelo matemático puede evaluar la probabilidad de supervivencia para cada uno de estos escenarios, dado un valor de letalidad entre 2 a 6 log. La probabilidad de supervivencia de algunos patógenos en un servicio tras el tratamiento de letalidad puede ser establecido mediante un modelo de supervivencia binomial tal y como se expresa en porcentajes en la siguiente tabla.

**Tabla 5.** Probabilidad media de supervivencia de un patógeno a través de un modelo binomial de supervivencia, expresada como la probabilidad de supervivencia de más de un microorganismo por servicio ( $p>1$ ) y la probabilidad de supervivencia de más de dos microorganismos ( $p>2$ ) al proceso de letalidad para el recuento de un patógeno determinado por servicio (CFU).

UFC	Valor de letalidad									
	2 log		3 log		4 log		5 log		6 log	
	$p>1$	$p>2$	$p>1$	$p>2$	$p>1$	$p>2$	$p>1$	$p>2$	$p>1$	$p>2$
$10^{-3}$	>0	>0	>0	>0	>0	>0	>0	>0	>0	>0
$10^{-2}$	>0	>0	>0	>0	>0	>0	>0	>0	>0	>0
$10^{-1}$	$2 \times 10^{-3}$	$7 \times 10^{-7}$	$2 \times 10^{-4}$	$7 \times 10^{-9}$	$2 \times 10^{-5}$	$7 \times 10^{-9}$	$2 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-11}$	$2 \times 10^{-7}$	$2 \times 10^{-9}$
$10^0$	0,2	$4 \times 10^{-4}$	0,02	$4 \times 10^{-6}$	$2 \times 10^{-3}$	$4 \times 10^{-8}$	$2 \times 10^4$	$4 \times 10^{-10}$	$2 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-9}$
$10^1$	4	0,1	0,4	$1 \times 10^{-3}$	0,04	$1 \times 10^{-5}$	$4 \times 10^{-3}$	$1 \times 10^{-7}$	$4 \times 10^{-4}$	$4 \times 10^{-9}$
$10^2$	40	10	5	0,2	0,5	$2 \times 10^{-3}$	0,05	$2 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-3}$	$2 \times 10^{-7}$
$10^3$	99,9	99,7	40	10	5	0,2	0,5	$2 \times 10^{-3}$	0,05	$2 \times 10^{-5}$
$10^4$	100	100	99,9	99,7	40	10	5	0,2	0,5	$2 \times 10^{-3}$

Los resultados muestran que cuando  $L$  es mayor de 2 log. que la media del número de patógenos por servicio (por ej., una letalidad de 2 log. para un recuento de patógenos de 1 UFC ( $10^0$ ) por servicio), la proporción de servicios donde existe supervivencia de más de un patógeno es menor al 1%. La proporción donde hay mas supervivencia de dos es menor de 0,0004%. Cuando  $L$  es sólo 1 log mayor que la población media, entonces hay más de un superviviente un 4% de las veces, pero más que dos sólo una vez en 1.000. Cuando  $L$  es el mismo que el recuento medio, hay más de un superviviente el 40% de las veces, y más de dos el 10% de las veces. Cuando  $L$  es menor que el promedio de patógenos, hay un superviviente. Por lo tanto, incluso para situaciones donde  $L$  es al menos 1 log mayor que el recuento medio de patógenos en una ración, la simple UFC por ración contaminada es una razo-

nable suposición. Esta condición (de que el producto esté contaminado al menos con  $10^L$  en cada porción de la ración), debería ser considerada para determinar el ámbito de esta premisa. Para el caso de los valores de letalidad estándar ( $L=5$  a  $7 \log_{10}$ ) y niveles de contaminación mayores de 10 UFC/g, la condición mencionada anteriormente, es asumible. En cambio, para valores de letalidad iguales o inferiores a 4, dicha asunción puede que no sea aplicable.

Serán inevitables las situaciones donde un producto tenga niveles de contaminación elevados muy localizados que puedan exceder de  $10^L$  en una ración y pueda por tanto quedar más de un microorganismo superviviente por servicio. El impacto neto de ese aumento en esas raciones es proporcional a su frecuencia y al incremento del riesgo asociado con tener más de un microorganismo superviviente. Se puede asumir que la rara frecuencia de aparición de altos niveles de contaminación localizados en servicios que contendrían múltiples microorganismos supervivientes, contrasta con el incremento del riesgo asociado a estos servicios, de forma que el impacto neto de los mismos sobre la salud pública no tiene una significación relativa en comparación con la gran mayoría de servicios contaminados.

En base a estas asunciones, la contaminación remanente que pueda quedar tras un tratamiento de letalidad debe considerarse de un microorganismo superviviente por porción de ración al final del proceso. Las propiedades de un producto y sus condiciones de almacenamiento y de recalentado, determinarán la cantidad de crecimiento y por tanto, el número final de microorganismos al momento del consumo.

La gran mayoría de productos que puedan permanecer contaminados después de un adecuado proceso de letalidad tendrán muy bajo nivel de contaminación y podrá asumirse el hecho de que tengan un simple microorganismo superviviente por porción de la ración. Además, como están sometidos a un procesado térmico, es posible que un microorganismo superviviente pueda quedar fuertemente adherido en el producto y sea por tanto menos susceptible de verse involucrado en cualquier escenario de contaminación cruzada asociada a la simple manipulación del producto.

Por otra parte, el modelado del crecimiento de *Salmonella* en productos RTE durante su almacenamiento nos permite examinar el grado de contribución de dicho crecimiento durante la venta y el almacenamiento por el consumidor hasta las dosis finales consumidas. Para productos que tienen el potencial elevado de permitir el crecimiento, el nivel de crecimiento experimentado por una ración determinada irá desde el no-crecimiento hasta alcanzar la densidad máxima de población. En situaciones donde el crecimiento se produce, la tasa de crecimiento dependerá de la temperatura y las características de cada producto. La estimación del grado de crecimiento que tiene lugar en los productos RTE se obtiene a través de la consideración de la duración y temperatura de almacenamiento durante la venta y almacenamiento del consumidor.

En la Evaluación del Riesgo llevada a cabo por el FSIS/USDA (2005), utilizan el modelo de raíz cuadrada,  $\sqrt{k} = b(T - T_{min})$ , para describir el crecimiento de *Salmonella* en productos RTE y utilizan la simulación de Monte-Carlo para los diferentes escenarios de temperatura y tiempo, usando el modelo de crecimiento para estimar la magnitud de crecimiento que pueda ocurrir.

En el estudio del FSIS/USDA (2005), el modelo es sólo un modelo de crecimiento genérico para *Salmonella*, especificado sólo para la temperatura y el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, la

amplia gama de productos RTE presentan niveles variables de pH, sal, actividad de agua, aditivos inhibidores de crecimiento y otros posibles parámetros importantes que pueden modificar el crecimiento y que no son considerados explícitamente en el modelo de crecimiento aplicado en su evaluación. Por consiguiente, para controlar el problema de variación en las condiciones de crecimiento deparadas por la variedad de productos RTE, el almacenamiento y los modelos de crecimiento son aplicados a clases de productos que corresponden a diferentes escenarios posibles de crecimiento. Estos escenarios van desde alimentos que producirán la inactivación del patógeno en el almacenamiento, a productos que permiten el crecimiento durante el almacenamiento refrigerado. Estos almacenamientos y modelos de crecimiento se asignan considerando el nivel relativo de crecimiento que podría obtenerse para los diferentes productos que se mantienen bajo las mismas condiciones (por ejemplo temperatura y tiempo). Membré et al. (2007), utilizando una aproximación probabilística, ilustran la forma de cómo un FSO establecido por la autoridad competente, puede ayudar a la toma de decisiones sobre la seguridad de un producto y del diseño del proceso en situaciones prácticas. Estos autores establecen el tiempo de aplicación mínimo requerido para *Salmonella* en carne de pollo, entre 0,26 y 0,43 minutos a 70° C, para cumplir con el hipotético FSO que pudiera establecerse para este tipo de productos cárnicos.

Para productos que no permiten el crecimiento, etiquetados como *no-crecimiento*, la asunción es una carga patógena final de un CFU por ración. En cierto sentido, esto proporciona un valor base. Para alimentos que no permiten el crecimiento y pueden producir una posibilidad reducida, etiquetados como alimentos de *baja-supervivencia*, se supone una reducción de 1-log nominal de este valor básico. Los alimentos que pueden afirmar el crecimiento se dividen entre los de “bajo-crecimiento en almacenamiento refrigerado” y los de “crecimiento normal en almacenamiento refrigerado”. Para estos escenarios, los modelos de ejemplo de temperatura de almacenamiento y distribuciones de tiempo son para venta y almacenamiento del consumidor como hemos especificado anteriormente. Estos valores se usan, por tanto, para determinar el crecimiento. Para el “almacenamiento refrigerado para bajo-crecimiento”, se asume que la proporción de crecimiento exponencial usada en el modelo es la mitad que para el crecimiento normal. Esto se basa en los datos para el crecimiento de *Salmonella* en jamón curado (datos en ComBase). El punto de partida del modelo de crecimiento es una estimación del nivel de contaminación en productos envasados en el almacenamiento.

Los fabricantes que poseen un conocimiento detallado de un determinado producto y sus condiciones esperadas de almacenamiento, pueden determinar o probar el crecimiento potencial de microorganismos en productos individuales. Aún así, todavía existirían numerosas incertidumbres para evaluar la distribución del crecimiento en el producto como una función de la temperatura y tiempo de almacenamiento.

#### 4. Recomendaciones para el cocinado seguro de carne de ave y derivados

Para abordar adecuadamente la pertinente y obligada comprobación de los diferentes métodos de higienización de carnes de aves, es primordial dar respuesta a una serie de interrogantes formulados en el informe del NACMCF (2007), donde se explicitan entre otras:

1. ¿Cuáles son las limitaciones de los diferentes métodos de cocinado, particularmente las microondas, que son necesarias destacar en el etiquetado y otros medios, que aseguren que el cocinado de carne de ave por los consumidores sea seguro?

2. ¿Son diferentes los requisitos de cocinado en función del tipo de ave (pollo, pavo, canal completa o porciones, proporción de grasa en la carne, crudo o parcialmente cocinado)?
3. ¿Que efecto, si lo hay, tendrán las condiciones de la carne de ave previas al cocinado (congelada o refrigerada) sobre el propio tratamiento de cocción?
4. ¿Cuál es la combinación tiempo/temperatura para cada tipo de ave que asegure un cocinado seguro?
5. ¿Qué consideraciones de seguridad deben ser recogidas en el etiquetado para destacar instrucciones de cocinado seguro?

La apariencia del producto y del envase y la interpretación del consumidor sobre la información proporcionada en el etiquetado, las instrucciones de uso y de seguridad pueden contribuir a la del consumidor y consecuentemente a la inadecuada preparación del producto. Así, productos no listos para el consumo que estén envasados en recipientes con bandeja plástica que son comúnmente asociados con productos listos para el consumo para ser calentados ligeramente con microondas, pueden quedar insuficientemente cocinados. Es decir, que el consumidor puede interpretar que el producto debe ser simplemente recalentado y no cocinado completamente para inactivar los microorganismos. Las instrucciones de cocinado deben asegurar que la temperatura mínima final es alcanzada, o debe indicar el método de cocinado adecuado.

En lo que respecta a las posibilidades de contaminación durante la preparación culinaria, es importante incidir en la aplicación de las buenas prácticas higiénicas y en la comprobación de la efectividad de los distintos sistemas de preparación de carne de ave y derivados, respecto a la inactivación microbiana. Entre otras particularidades es conveniente destacar las ventajas y limitaciones de los diferentes métodos de cocinado para alcanzar internamente 74° C sin limitación de tiempo, como criterio de funcionamiento recomendado para conseguir la seguridad del producto. Por ejemplo, la preparación de un producto en horno microondas, al igual que otros métodos de cocinado, está influenciada por la composición (humedad, densidad, grasa, etc.), formato y tamaño del producto, así como de la potencia y diseño del horno microondas (por la dificultad de aplicar el calentamiento uniforme).

Algunas ventajas e inconvenientes de los distintos métodos de cocinado señalados por el NACMCF (2007):

## 1. Hervido

### Ventajas

El contacto de la superficie del producto completo con el medio calorífico. Generalmente el producto debe continuar a temperatura letal por bastante tiempo.

### Limitaciones

Dificultad de tomar la temperatura interna del producto durante el cocinado.

## 2. Asado a la parrilla

### Ventajas

Buena letalidad superficial.

## **Limitaciones**

La formación de corteza limita la transferencia de calor.  
Calentamiento desigual.

### **3. Fritura por inmersión completa en aceite**

#### **Ventajas**

La superficie completa del producto esta en contacto con el medio de calentamiento.  
La temperatura sube continuamente.

#### **Limitaciones**

La recuperación de la temperatura del aceite puede ser lenta cuando cocinamos un producto congelado.  
Dificultades de tomar la temperatura interna del producto mientras cocinamos.  
Mal cocinado interior aunque exteriormente parezca bien cocinado.

### **4. Sartén**

#### **Ventajas**

Alta temperatura en la superficie de cocinado.

#### **Limitaciones**

Cocinado desigual.  
Mal cocinado interior aunque el exterior aparente buen aspecto de cocinado.

#### **Otras consideraciones de seguridad alimentaria**

Poner o quitar la tapa influye en el tiempo de cocinado y en la uniformidad.

### **5. Parrillas**

#### **Ventajas**

Buena superficie de letalidad.

#### **Limitaciones**

La formación de corteza limita la transferencia de calor.  
Calentamiento no uniforme; la meteorología puede afectar al tiempo de cocinado para parrillas en el exterior.  
No es factible para canales enteras muy grandes (por ejemplo de más de 16 lb).

#### **Otras consideraciones de seguridad alimentaria**

Gran posibilidad de contaminación cruzada por los utensilios.  
Los cocineros inexpertos pueden no cocinar bien los productos (si no se usa termómetro).

### **6. Parrilla simultánea de dos caras**

#### **Ventajas**

Mejor calentamiento que las parrillas de una cara.

#### **Limitaciones**

Los productos grandes o gruesos no permiten el cierre del equipo.

## Otras consideraciones de seguridad alimentaria

La posición de los productos influye en la penetración del calor.

### 7. Microondas (referido sólo a hornos microondas, no a hornos convencionales microondas)

#### Ventajas

Resultados más rápidos en el menor tiempo en la zona peligrosa para el crecimiento de bacterias.

Baja potencialidad de contaminación cruzada de productos originales en su envoltorio.

#### Limitaciones

Calentamiento desigual.

El cocinado se afecta por:

1. Volumen del producto.
2. Características del producto (forma y composición).
3. Características del recipiente de cocinado (material, forma, si tiene cobertura).
4. Emplazamiento del producto en el horno.
5. Presencia o ausencia de plato rotatorio.

#### Otras consideraciones de seguridad alimentaria

Posible influencia de otros electrodomésticos en la potencia disponible.

Las diferencias de los equipamientos hacen difícil una estandarización de cocinado.

Uso inapropiado de la configuración por cocineros inexpertos (como los niños).

Dificultades de medir la temperatura mientras se cocina.

Diferencias de potencia en los hornos.

### 8. Asado o cocido en seco (cocido y asado son a menudo usados simultáneamente)

#### Ventajas

Generalmente el producto permanece a una temperatura letal bastante tiempo.

#### Limitaciones

La formación de corteza reduce la penetración del calor.

La forma del producto puede llevar a una cocción inadecuada.

#### Otras consideraciones de seguridad alimentaria

La influencia de los componentes que no son de pollería (relleno, empanado, rebozado, a la cazuela) en los perfiles de temperatura.

### 9. Asado o cocido con jugo (cubiertos o con líquidos alrededor; incluyendo cocinado en bolsa o papel de aluminio)

#### Ventajas

Generalmente el producto permanece a una temperatura letal bastante tiempo.

La formación de corteza, si ocurre, tiene lugar después del calentamiento húmedo dando una superficie adecuada de letalidad.

#### Limitaciones

La forma del producto puede llevar a una cocción inadecuada.

## Otras consideraciones de seguridad alimentaria

La influencia de los componentes que no son de pollería (relleno, empanado, rebozado, a la cazuela) en los perfiles de temperatura.

### 10. Asador o Grill

#### Ventajas

La exposición al calor es más uniforme que los procesos estáticos.

Buena letalidad en la superficie.

#### Limitaciones

La formación de corteza limita la transferencia de calor.

### 11. Cocinado lento

#### Ventajas

Generalmente los productos mantienen una temperatura letal largo tiempo.

#### Limitaciones

El congelado y las grandes piezas de ave se mantienen en una zona peligrosa de crecimiento microbiano por bastante tiempo.

La lenta subida de la temperatura.

#### Otras consideraciones de seguridad alimentaria

La pérdida de calor cuando la tapa se levanta durante el cocinado hace que la temperatura tarde en alcanzarse de nuevo.

### 12. Ahumado

#### Ventajas

Generalmente los productos mantienen una temperatura letal largo tiempo.

#### Limitaciones

Dificultad para controlar la temperatura.

La temperatura y las gotas de humedad cuando el aparato se vuelve a llenar de carbón o madera (dependen del diseño del ahumador).

El ambiente puede afectar al tiempo de cocinado.

#### Otras consideraciones de seguridad alimentaria

Se necesita humedad para una adecuada superficie de letalidad.

El equipamiento y las fuentes de calor tienen una difícil estandarización de instrucciones de cocinado.

Se pueden usar termómetros de control remoto.

### 13. Al vapor

#### Ventajas

Buena penetración del calor.

#### Limitaciones

Dificultad de toma de temperatura interna del producto mientras se cocina.

Poner demasiados productos puede reducir la transferencia de calor.  
Asegurar adecuadamente el nivel de líquido.

## 5. Estimación del efecto del recalentado

Los productos que han sido recalentados tienen menor potencial de generar riesgo que un producto similar que no ha sido recalentado. El impacto del recalentamiento superficial afectará a la población de microorganismos que se encuentran en la superficie del producto debido a una recontaminación posterior al procesado de letalidad. Sin embargo, considerando la posibilidad de inactivar específicamente aquellos patógenos que sobrevivieron al proceso letal, es importante reconocer que dichos microorganismos no son fácilmente susceptibles de ser inactivados. El hecho de haber sobrevivido sugiere que puedan estar de alguna forma protegidos. En definitiva el proceso de recalentamiento no va a ser, en muchos casos, tan intenso como el procesado original e irá dirigido simplemente a conseguir las características deseadas para su inmediato consumo.

En cualquier caso, la industria alimentaria es responsable de proporcionar al consumidor, instrucciones válidas de cocinado para conseguir un producto microbiológicamente seguro, y será la administración sanitaria la responsable de verificar que el fabricante lo hace. Igualmente deberá indicarse claramente si el producto es o no, listo para el consumo (RTE) y no dejar a criterio del consumidor el determinar si el producto puede ser consumido sin más, o debe ser sometido a una preparación culinaria parcial o completa.

Una explícita temperatura final a ser alcanzada o una relación precisa de tiempo/temperatura deben ser recomendadas al consumidor. Las recomendaciones del NACMCF (2007) fijan dicha temperatura en 74° C. Pero al mismo tiempo deben proporcionarse al consumidor unas instrucciones claras sobre la forma de cocinado para obtener un producto seguro. Dichas instrucciones deberán elaborarse recogiendo diversas situaciones en la que se encuentre el producto/proceso (tiempo necesario de cocinado para productos previamente congelados, consideraciones de tiempo en determinados sistemas de procesado como microondas, sistemas para comprobar la temperatura interna alcanzada por el producto durante el cocinado, importancia de la calibración de los termómetros, etc.).

Además de todas estas consideraciones sobre el cocinado, las recomendaciones deberán incluir la necesidad de observar buenas prácticas higiénicas en la manipulación para prevenir la contaminación cruzada de productos RTE, así como instrucciones sobre almacenamiento y refrigeración adecuada de estos productos perecederos.

## Diferentes aproximaciones a la evaluación cuantitativa del riesgo microbiano (*Salmonella* y *Campylobacter*) durante el procesado de carne de ave y productos derivados

En los últimos años, se han desarrollado diferentes aproximaciones a la ECRM que tratan de modelar la transmisión de microorganismos desde la cadena de producción de carne de ave hasta su consumo (Hartnett et al., 2002) (FAO/WHO, 2002) (Ranta y Maijala, 2002) (Rosenquist et al., 2003) (FSIS/USDA, 2005) (Nauta et al., 2005). Estos modelos matemáticos son conocidos como modelos tipo “desde la granja a la mesa”, describiendo los cambios en la prevalencia y concentración de un deter-

minado patógeno en las diferentes etapas de la cadena producción-consumo, con el objetivo de encontrar la estrategia de mitigación del riesgo más eficiente para reducir riesgos de salud pública. Uno de los esquemas propuestos para desarrollar modelos “desde la granja a la mesa” y su adaptación al marco de ECRM es la metodología modular por procesos (MPRM) de Nauta (2001). Aplicando esta metodología, las etapas del proceso son divididas en procesos denominados básicos, describiendo el crecimiento microbiano e inactivación, manipulación, división y mezcla, eliminación y contaminación cruzada. Mediante la identificación específica de estos procesos al inicio del modelamiento, el desarrollo de modelos tipo “de la granja a la mesa” puede ser bien estructurado y unificado.

El modelo MPRM ha sido específicamente aplicado al procesado de carne de ave y desarrollado para *Campylobacter* termofilos mediante un proyecto en colaboración denominado CARMA “*Campylobacter* Risk Management and Assessment” (Havelaar et al., 2003) y que posteriormente ha sido utilizado para llevar a cabo una ECRM en el procesado de carne de ave (Nauta et al., 2005), donde se comprueba el efecto de la inactivación de microorganismos y la dinámica de contaminación cruzada en términos de transferencia de *Campylobacter* desde el intestino a la superficie de la canal, desde la canal al entorno y del entorno a las canales. Estos autores concluyen que el efecto de la inactivación es importante para aquellas canales con una carga inicial elevada, mientras que la contaminación cruzada es de mayor importancia en aquellas canales con niveles iniciales bajos. Johannessen et al. (2007) comprueban la transmisión de *Campylobacter* spp. entre canales de pollo durante el sacrificio. Rosenquist et al. (2003) desarrollan una ECRM para valorar el efecto de diferentes estrategias de mitigación del número de casos de campylobacteriosis en humanos asociados a *Campylobacter* spp. en pollos, usando modelos cuantitativos y simulación de Monte Carlo. Las simulaciones muestran que la incidencia de campylobacteriosis asociadas al consumo de carne de pollo puede ser reducida 30 veces mediante la reducción de dos unidades logarítmicas del número de *Campylobacter* en las canales de pollo. Luber et al. (2006) cuantifican la contaminación cruzada por *Campylobacter* durante la manipulación de carne de pollo, obteniendo ratios del 3,5% desde la carne a las manos y ratios de hasta un 27% desde las manos y otros utensilios hasta alimentos listos para el consumo.

De entre las evaluaciones de riesgo relativas a *Salmonella* en carne de pollo cabe destacar la llevada a cabo por la WHO/FAO (2002), sobre la evaluación del riesgo de *Salmonella* spp. en carne de pollo. En ella se proporciona información útil para determinar la repercusión que puedan tener las estrategias de intervención en la reducción de casos de salmonelosis procedentes de pollos contaminados. Se determina la relación entre el cambio de prevalencia de *Salmonella* spp. en pollos y la reducción del riesgo de enfermedad por ración. Sin embargo no se hacen comparaciones entre los efectos de las distintas medidas de intervención debido a la naturaleza de los datos empleados. Igualmente no son consideradas todas las partes del proceso producción-consumo, lo que limita el rango de las opciones de control que puedan ser evaluadas. Se constata la falta de datos representativos para analizar los cambios de prevalencia o concentración de *Salmonella* en carne de pollo en función de un tratamiento específico, por lo que entre las recomendaciones de los expertos consultados en esta evaluación de riesgos se señala la oportunidad de realizar un análisis de sensibilidad que indique a los gestores del riesgo cuando pueden aplicar las opciones de gestión de riesgos con una utilización óptima

de los recursos. Igualmente se señala la necesidad de obtener datos basados en encuestas epidemiológicas y estudios experimentales diseñados específicamente para proporcionar información para evaluaciones de riesgos microbiológicos. Aún con esas limitaciones el estudio provee una forma de comparar los efectos sobre el riesgo cuando la prevalencia y la concentración del número de microorganismos es cambiada. Los parámetros del modelo pueden ser modificados para evaluar la eficacia de la aplicación de estrategias de mitigación del riesgo como puede ser la cloración del agua de enfriado para reducir la prevalencia de canales contaminadas con *Salmonella*.

La reducción de la prevalencia está asociada con una reducción de la probabilidad de enfermar. Así un 50% de reducción (20% al 10%) produce una reducción del 50% del riesgo a enfermar por ración. De la misma forma, una mayor reducción en la prevalencia (20% al 0,05%) puede producir una reducción del 99,75% en el riesgo de enfermar.

Una pequeña reducción en la frecuencia de una deficiente cocción produce una marcada reducción del riesgo esperado de enfermedad por ración, aunque se advierte que modificando las prácticas de cocción no se impide el riesgo de enfermar ya que la contaminación cruzada puede ser de hecho la fuente predominante de riesgo de enfermar, y la naturaleza de contaminación cruzada en el hogar es todavía un fenómeno muy incierto.

Pero entre las limitaciones del modelo, se destaca la forma en que el modelo predice la muerte de *Salmonella* en las canales de pollo broiler durante el proceso cocción. Una explicación a este hecho es señalada por O'Bryen et al (2006), ya que la resistencia térmica de los microorganismos está afectada por muchos factores. Así, diferentes cepas del mismo microorganismo tienen diferentes respuestas al calor. La edad del cultivo, condiciones de crecimiento, pH y otros numerosos factores puede afectar a la resistencia térmica de los microorganismos. Estos datos deben ser tenidos en cuenta a la hora de validar los tiempos/temperaturas aplicadas al tratamiento térmico de carne y productos cárnicos.

Oscar (2004) desarrolla un modelo para la ECRM para *Salmonella* en pollo entero, observando como la incidencia de *Salmonella* cambia desde el 30% a nivel de venta hasta 0,16% después de cocinado y al 4% en el momento del consumo. El modelo desarrollado estimó 0,44 casos de salmonelosis por 100.000 consumidores, lo cual está muy cercano a los recientes datos epidemiológicos de 0,66–0,88 casos de salmonelosis por 100.000 consumidores de pollo.

En productos derivados elaborados con carne de ave, el riesgo puede llegar a ser muy elevado si no se observan unas buenas prácticas higiénicas durante su elaboración o no se alcanzan las adecuadas temperaturas durante el cocinado para la inactivación de microorganismos que puedan estar presentes en estos productos como es el caso de *Salmonella* (Bemrah et al., 2003). Estos autores realizan una ECRM para evaluar el riesgo de salmonelosis derivada del consumo de "Cordon bleu", un típico producto de carne de pavo servido en diferentes establecimientos de restauración colectiva. Datos de prevalencia y concentración de *Salmonella* en el producto, condiciones del proceso de cocinado y almacenamiento fueron modelados y simulados. La cinética de inactivación térmica de *Salmonella* fue establecida para estimar el efecto del tratamiento térmico en la concentración en el producto para calcular la dosis que puede ser ingerida por el consumidor. Para estimar la probabilidad de enfermar debido a la ingestión de una cantidad de producto determinada, se utilizó un modelo Dosis-Respuesta

Beta-Poison. El riesgo individual, riesgo de brote y número de casos de salmonelosis fueron calculados usando el método de simulación de Monte Carlo. Como el riesgo de salmonelosis fue próximo a cero cuando el producto fue cocinado en el horno, se calculó en aquellos casos de cocinado incompleto. Así cuando el producto contenía una elevada concentración inicial de *Salmonella* y era insuficientemente cocinado, el riesgo medio de salmonelosis era igual a  $3,95 \times 10^3$  sin almacenamiento antes del consumo y de  $2,8 \times 10^4$  si el producto es consumido después del almacenamiento.

### Limitaciones e incertidumbres en la evaluación del riesgo microbiano asociado al consumo de carne de ave sometida a diferentes tratamientos tecnológicos

Las estimaciones de riesgo generadas en toda valoración caen dentro de los amplios límites de incertidumbre. Los cálculos se llevan a cabo para capturar variabilidad e incertidumbre.

Los procesos que inactivan los patógenos así como el crecimiento de poblaciones patógenas incluyen variabilidad que se describe mejor en escala logarítmica. Esto significa que las variaciones alrededor de las estimaciones centrales se pueden medir en factores múltiples de 10 en cualquier dirección. Un proceso que produce una reducción de 6-log puede tener la variabilidad inherente por encima de un rango de 5 a 7-log. Esto implica que la proporción de patógenos que sobreviven al proceso diferirá en un factor de 100 por este rango. Éste no es un ejemplo extremo del tipo de variabilidad que es inherente en estos sistemas. Los escenarios de crecimiento son igualmente variables, donde el tamaño de la población generalmente se medirá en múltiples órdenes de magnitud.

Además de la variabilidad en los procesos, hay incertidumbres considerables en aquellas variables importantes que también se pueden medir en factores de múltiplo de 10. Como ejemplo, una estimación de la media de concentración del patógeno en las materias primas puede ser de 1 organismo por gramo. En este caso, si la estimación se basa en datos adquiridos antes de los cambios significativos en la industria, podría ser asumible que la concentración media actual fuera sólo de 1 organismo por 10 gramos. Igualmente, la consideración de incertidumbre en el proceso de muestreo (por ejemplo, la sensibilidad del proceso de detección) podría sugerir que la concentración media es realmente más próxima a 10 organismos por gramo.

Además de este tipo de incertidumbre científica, las estimaciones de riesgo pueden ser muy sensibles a la incertidumbre en la magnitud de variabilidad. Para riesgos microbiológicos, estimamos el riesgo en un nivel de población, particularmente en presencia de variabilidad logarítmica, se dominará a menudo por extremos de alto riesgo (o 'colas') de procesos variables. Si la magnitud de estos extremos de alto riesgo es incierta, entonces las estimaciones de riesgo en la población serán igualmente inciertas.

### Fuentes dominantes de Incertidumbre

#### La carga de patógenos en los productos crudos

El riesgo asociado con los patógenos supervivientes es generalmente proporcional al número de organismos en el producto crudo. La necesidad de conocer el número de microorganismos presentes en los productos requiere llevar a cabo estudios básicos microbiológicos sobre carne de aves y productos derivados. Los estudios disponibles son de hace aproximadamente una década y anteriores, lo que puede significar cambios en el procesamiento industrial que afectaría al número de organismos en las

materias crudas. Varios problemas técnicos (por ejemplo, asociados con el procesado de la muestra) se añaden a la amplia incertidumbre de la estimación de carga patógena en las materias crudas.

### **Factores de seguridad del proceso térmico**

El proceso de estimación de riesgo emplea factores de seguridad del proceso térmico. Estos factores son incluidos para capturar los ajustes más importantes para la estimación de la letalidad del proceso que se aplica. Estos ajustes se aplican donde se supone que la *letalidad eficaz* real que se alcanza sería considerablemente mayor que la *letalidad requerida*. Hay numerosas razones potenciales para este ajuste. Los ejemplos incluyen:

- La letalidad alcanzada esperada es más alta en toda la masa de un producto cocinado para calentar la parte interior del producto adecuadamente.
- La situación de los microorganismos en la superficie del producto; experimentan combinaciones muy altas de tiempo y temperatura durante el calentamiento del producto.
- El uso de cepas muy resistentes de *Salmonella enterica* (por ejemplo serovar Senftenberg) validando procesos que producen la letalidad significativamente más alta que la que se requeriría en ausencia de dichas cepas.

Para un producto individual bien-definido y procesado, es posible simular el impacto de dichos factores en la letalidad eficaz global. Sin embargo, no es factible llevar a cabo este nivel de análisis cuando se considera que la industria produce una gran diversidad de categorías de productos. Además, la estimación de riesgo tendrá una gran influencia para esos procesos donde el factor de seguridad del proceso térmico está en su extremo de riesgo superior. Como resultado este factor importante permanece como el elemento más incierto en la valoración.

### **Almacenamiento y crecimiento**

La incertidumbre en la magnitud del crecimiento es debida parcialmente a la caracterización de las categorías del producto y al hecho de que las formulaciones y las categorías del producto final son propiedad y variables. El impacto del almacenamiento y el crecimiento también deducen la incertidumbre de la duración y las condiciones de almacenamiento y las asunciones científicas con respecto a la densidad de población máxima que se alcanzaría en un producto que se mantiene bajo condiciones que permitirán el crecimiento significativamente.

### **Recalentado por el consumidor**

Aunque los consumidores ciertamente recalentarán algunos productos, la reducción de la población de patógenos es muy incierta. Los consumidores pueden recalentar mínimamente el producto (por ej., simplemente para “comerlo calentito”), o pueden recalentarlo completamente en algunos casos. La estimación de riesgo es bastante sensible a la proporción de consumidores que no recalientan o recalientan con la mínima letalidad. El impacto de incertidumbre en este factor es específico para cada producto, como algunos productos que no se espera que sean recalentados en absoluto.

## La relación dosis-respuesta

Ahí sigue estando la incertidumbre más considerable en el riesgo asociado con números bajos de patógenos. Para muchos productos, se supone que no ocurrirá crecimiento (por ejemplo, debido a la sequedad del producto u otros factores de formulación). En estos casos, la dosis ingerida por ración contaminada será de un solo organismo. Ahora se reconoce generalmente que es posible enfermar por un solo organismo, sin embargo la probabilidad de enfermar es bastante incierta. Esta incertidumbre se complica más por la falta de información sobre serovariedades específicas que pueden ser importantes en la determinación de la patogenicidad.

## Volumen de producción

Para producir una estimación de riesgo de salud en la población, se requiere estimar el volumen de la producción. Hay datos limitados en la producción de carne de aves RTE específica y productos derivados. Las bases de datos como los censos económicos y las bases de datos de estudios nutricionales pueden proporcionar una información inexacta de la que se pueden derivar algunas de las estimaciones reseñadas. Se considera que la incertidumbre es con toda seguridad mayor para ciertos productos cárnicos de ave RTE (por ejemplo, los pasteles de carne cocinados o las salchichas fermentadas).

## Agradecimientos

El presente trabajo ha sido financiado por el convenio SGCO/0152/2006 de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN).

## Referencias

- Bemrah, N., Bergis, H., Colmin, C., Beaufort, A., Millemann, Y., Dufour, B., Benet, J.J., Cerf, O. y Sanaa, M. (2003). Quantitative risk assessment of human salmonellosis from the consumption of a turkey product in collective catering establishments. *International Journal of Food Microbiology*, 80, pp:17– 30.
- Bigelow, W.D., Bohart, G.S., Richardson, A.C. y Ball, C.O. (1920). Heat penetration in processing canned foods. *Natl. Canners Assoc. Bull.*, 16-L.
- Blankenship, L.C. y Craven, S.E. (1982). *Campylobacter jejuni* survival in chicken meat as a function of temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 44, pp:88-92.
- Beumer, R. y Kusumaningrum, H. (2003) Kitchen hygiene in daily life. *Int. Biode. Biodeg.*, 51, pp:299-302.
- Brown, M.H., Davies, K.W., Billo, C.M., Adair, C. y McClure, P.J. (1998). Quantitative microbial risk assessment: principles applied to determining the comparative risk of salmonellosis from chicken products. *Journal of Food Protection*, 61, pp: 1446-1453.
- EFSA (2004). European Food Safety Authority. Opinión of BioHaz the use of vaccines for the control of *Salmonella* in poultry.
- EFSA (2006). European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2005. *The EFSA Journal*, 94.
- FAO/WHO (1995). Food Agriculture Organization/ World Health Organization. Application of risk analysis to food standards. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO/WHO, Geneva, Italia.
- FAO/WHO (1997). Food Agriculture Organization/ World Health Organization. Risk management and food safety. Report of a joint FAO/WHO consultation Rome, Italy, 27 to 31 January 1997. FAO/WHO, Rome and Geneva.

- FAO/WHO (1998). Food Agriculture Organization/ World Health Organization. Application of risk communication to food standards and food safety.
- FAO/WHO (2001). Food Agriculture Organization/ World Health Organization. Principles for the establishment and application of microbiological criteria for foods. General Requirements. CAC/GL 21-1997. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Codex Alimentarius Commission. FAO/WHO, Roma, Italia.  
Disponible en: <<http://www.fao.org/DOCREP/004/Y1579E/Y1579E00.HTM>>
- FAO/WHO (2002). Food Agriculture Organization/ World Health Organization. Risk assessments of Salmonella in eggs and broiler chickens: technical report.  
Disponible en: <<http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/salmonella.pdf>>
- FAO/WHO (2006). Food Agriculture Organization/ World Health Organization. The use of microbiological risk assessment outputs to develop practical risk management strategies: Metrics to improve food safety. Kiel.
- FSIS/USDA (2005). Food Safety and Inspection Service/ U.S. Department of Agriculture. Risk Assessment for the Impact of Lethality Standards on Salmonellosis from Ready-to-Eat Meat and Poultry Products.  
Disponible en: <[http://www.fsis.usda.gov/PDF/Salm\\_RTE\\_Risk\\_Assess\\_Sep2005.pdf](http://www.fsis.usda.gov/PDF/Salm_RTE_Risk_Assess_Sep2005.pdf)>.
- Hartnett, E., Kelly, L.A., Gettinby, G. y Wooldridge, M. (2002). A quantitative risk assessment for campylobacters in broilers: work in progress. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 50, pp: 161-165.
- Havelaar, A., Bogaard, M.J., Cooke, R., Evers, E., Van der Fels-Klerx, I., Goossens, L., Jacobs-Reitsma, W., De Jong, M., Mangen, M.J., Mylius, S., Nauta, M., Van Pelt, W., Schijven, J., Stegeman, H., Wagenaar, J., De Wit, A. y Van der Zee, H. (2003). CARMA: A multidisciplinary approach to controlling campylobacteriosis. *International Journal of Medical Microbiology*, 293 (suppl. 35), pp: 26.
- ILSI (2004). International Life Sciences Institute. Food safety objectives- role in microbiological food safety management. ILSI Europe Report series. Washington, DC: ILSI Press
- Johannessen, G.S., Johnsen, G., Okland, M., Kudjoe, K.S. and Hofshagen, M. (2007). Enumeration of thermotolerant *Campylobacter* spp. from poultry carcasses at the end of the slaughter-line. *Letters in Applied Microbiology*, 44, pp: 92-97.
- Juneja, V.K., Eblen, B.S. y Marks, H.M. (2001). Modeling non linear survival curves to calculate thermal inactivation of *Salmonella* in poultry of different fat levels. *International Journal of Food Microbiology*, 70, pp:37-51.
- Luber, P., Brynestad, S., Topsch, D., Scherer, K. y Bartelt, E. (2006). Quantification of *Campylobacter* species cross-contamination during handling of contaminated fresh chicken parts in kitchens. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, pp: 66-70
- Membré, J.M., Basset, J. y Gorris, L. (2007). Applying the food safety objective and related standards to thermal inactivation of *Salmonella* in poultry meat. *Journal of Food Protection*, 70, pp: 2036-2044.
- McMeekin, T.A., Presser, K., Ratkowsky, D.A., Ross, T., Salter, M. y Tienungoon, S. (2000). Quantifying the hurdle concept by modelling the bacterial growth/ no growth interface. *International Journal of Food Microbiology*, 55, pp:93-98.
- NACMCF (2007). Response to the questions posed by the food safety and inspection service consumer guidelines for the safe cooking of poultry products. *Journal of Food Protection*, 70, pp: 251-260.
- Nauta, M.J. (2001). A modular process risk model structure for quantitative microbiological risk assessment and its application in an exposure assessment of *Bacillus cereus* in REPFED. RIVM report 149106007. Holanda. Bilthoven.
- Nauta, M., van der Fels-Klerx, I.H.J. y Havelaar, A. (2005). A poultry-processing model for quantitative microbiological risk assessment. *Risk Analysis*, 25, pp: 85-98.
- O'Bryan, C.A., Grandall, P.G., Martin, E.M., Griffis, C.L. y Johnson, M.G. (2006). Heat resistance of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* 0157:H7, and *Listeria innocua* M1, a potential surrogate for *Listeria monocytogenes* in meat and poultry: A review. *Journal of Food Science*, 71, pp: 23-30.
- Oscar, T.P. (1998). The development of a risk assessment model for use in the poultry industry. *Journal of Food Safety*, 18, pp: 371-381.

- Oscar, T.P. (2004). A quantitative risk assessment model for Salmonella and whole chickens. *Int. J. Food Microbiol.*, 93, pp:231– 247.
- Pérez-Rodríguez, F., Valero, A., Carrasco, E., García R.M<sup>a</sup>. y Zurera, G. (2008). Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19, pp: 130-143.
- Ranta, J., y Maijala, R. (2002). A probabilistic transmission model of Salmonella in the primary broiler production. *Risk Analysis*, 22, pp:47-58.
- Rosenquist, H., Nielsen, N.L., Sommer, H.M., Norrung, B. y Christensen, B.B. (2003). Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic *Campylobacter* species in chickens. *Int. J. Food Microbiol.*, 83, pp:87 - 103.
- UE (2003). Directiva 2003/99/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de noviembre de 2003, sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos y por la que se modifica la Decisión 90/424/CEE del Consejo y se deroga la Directiva 92/117/CEE del Consejo. DO L 325 de 12 de diciembre de 2003. pp: 31-40.
- UE (2006). Reglamento (CE) n° 1177/2006 de la Comisión, de 1 de agosto de 2006, por el que se aplica el Reglamento n° 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo con respecto a los requisitos de uso de métodos específicos de control en el marco de los programas nacionales de control de la *Salmonella* en las aves de corral. DO L 212 de 2 de agosto de 2006. pp: 3-5.
- USDA (2005). Disponible en: [http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FSISNotices/RTE\\_Poultry\\_Tables.pdf](http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FSISNotices/RTE_Poultry_Tables.pdf).
- WHO/FAO (2002). Risk assessments of Salmonella in eggs and broiler chickens. Geneva, Switzerland.



MINISTERIO  
DE SANIDAD  
Y CONSUMO

