

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la idoneidad de los requisitos adicionales de higiene aplicables a la leche cruda destinada a la venta directa al consumidor final

Número de referencia: AESAN-2020-001

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 16 de enero de 2020

Grupo de trabajo

Pablo Fernández Escámez (Coordinador), Carlos Alonso Calleja, Carlos Manuel Franco Abuín, Elena González Fandos, David Rodríguez Lázaro y María José Ruiz Leal

Comité Científico

Carlos Alonso Calleja Universidad de León	Rosa María Giner Pons Universitat de València	Sonia Marín Sillué Universitat de Lleida	Magdalena Rafecas Martínez Universitat de Barcelona
Montaña Cámara Hurtado Universidad Complutense de Madrid	Elena González Fandos Universidad de La Rioja	José Alfredo Martínez Hernández Universidad de Navarra	David Rodríguez Lázaro Universidad de Burgos
Álvaro Daschner Hospital de La Princesa de Madrid	María José González Muñoz Universidad de Alcalá de Henares	Francisco José Morales Navas Consejo Superior de Investigaciones Científicas	Carmen Rubio Armendáriz Universidad de La Laguna
Pablo Fernández Escámez Universidad Politécnica de Cartagena	Esther López García Universidad Autónoma de Madrid	Victoria Moreno Arribas Consejo Superior de Investigaciones Científicas	María José Ruiz Leal Universitat de València
Carlos Manuel Franco Abuín Universidade de Santiago de Compostela	Jordi Mañes Vinuesa Universitat de València	María del Puy Portillo Baquedano Universidad del País Vasco	Pau Talens Oliag Universitat Politècnica de València

Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Resumen

El Reglamento (CE) N° 853/2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal, permite la comercialización de leche cruda para consumo humano directo. Además, determina que los Estados miembros de la Unión Europea pueden regular mediante normas específicas, prohibir o limitar la comercialización de leche cruda destinada al consumo humano directo. La situación actual en España permite la comercialización de leche cruda sin ningún requisito adicional al citado Reglamento.

Pese a estar autorizado, en cuanto a la evaluación del riesgo, los informes científicos de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2015), y del Comité Científico de AESAN (AESAN, 2015) ponen de manifiesto que el consumo de leche cruda supone un riesgo para la salud de los consumidores.

La Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) ha solicitado a su Comité Científico que realice un informe en el que valore si las medidas de gestión del riesgo relacionadas con la leche

cruda destinada a la venta directa al consumidor final, propuestas para ser incorporadas en el proyecto de Real Decreto por el que se regularán y flexibilizarán determinadas condiciones de aplicación de las disposiciones de la Unión Europea en materia de higiene de la producción y comercialización de los productos alimenticios y se regularán actividades excluidas de su ámbito de aplicación, son adecuadas para proporcionar un elevado nivel de protección a los consumidores o si, de otro modo, es necesario prohibir la comercialización de leche cruda destinada a la venta directa al consumidor final en España.

Las medidas de gestión del riesgo relacionadas con leche cruda destinada a la venta directa al consumidor final propuestas (criterios microbiológicos, obligatoriedad de envasar la leche e indicar en el etiquetado “Leche cruda sin tratamiento térmico: hervir antes de consumir” y “Conservar en refrigeración entre 1 y 4 °C”) se pueden considerar, en el caso de que se cumplan todas ellas, adecuadas para proporcionar un elevado nivel de protección a los consumidores de este producto.

La evaluación de las cinéticas de crecimiento de los patógenos considerados a 4, 6 y 7 °C en base a datos bibliográficos muestran que el periodo de latencia predicho, daría lugar, en el caso más desfavorable, a un crecimiento inferior a los niveles autorizados (considerando a *Listeria monocytogenes* como el microorganismo de referencia). Por ello se recomienda establecer una vida útil de 3 días.

Existen numerosos riesgos microbiológicos que pueden estar presentes en la leche cruda, por lo que se considera que la leche cruda es un alimento peligroso para la salud del consumidor si no se cumplen de forma estricta los criterios establecidos, especialmente la refrigeración y el proceso de hervido de la leche antes de su consumo.

Se recomienda incluir en el etiquetado una advertencia para evitar que el consumo de leche cruda sin seguir las medidas exigidas pueda suponer un riesgo para la salud.

Palabras clave

Leche cruda, *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, STEC, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, riesgo microbiológico.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the suitability of the additional hygiene requirements applicable to raw milk intended for direct sale to the final consumer

Abstract

Regulation (EC) No. 853/2004, laying down specific hygiene rules for food of animal origin, allows placing on the market raw milk for direct human consumption. Moreover, it determines that the Member States of the European Union can regulate by means of specific rules, prohibit or limit the placing on the market of raw milk intended for direct human consumption. The current situation in Spain allows placing on the market raw milk without any additional requirements to the aforementioned Regulation.

Despite being authorised, in terms of risk assessment, the scientific reports of the European Food Safety Authority (EFSA, 2015), and the AESAN Scientific Committee (AESAN, 2015) show that the consumption of raw milk involve a risk to the health of consumers.

AESAN (Spanish Agency for Food Safety and Nutrition) has requested its Scientific Committee to prepare a report assessing whether the risk management measures related to raw milk intended for direct human consumption, are adequate to provide a high level of consumer protection. Or if, alternatively, it is necessary to prohibit the placing on the market of raw milk intended for direct human consumption in Spain. These proposals will be incorporated into the draft Royal Decree regulating certain conditions for applying the provisions of the European Union in the area of production hygiene and marketing of foodstuffs and regulating activities excluded from its scope.

The proposed risk management measures related to raw milk intended for direct human consumption (microbiological criteria, mandatory packaging of milk and indicating on the label: "Raw milk not heat-treated: boil before consumption" and "Store in refrigeration between 1 and 4 °C") may be considered, provided all of them are met, adequate to provide a high level of protection to consumers of this product.

The evaluation of the growth kinetics of the pathogens considered at 4, 6 and 7 °C based on bibliographic data show that with the predicted latency period, in the most unfavourable case, growth would be lower than authorised levels (taking *Listeria monocytogenes* as the reference microorganism). It is therefore recommended that the shelf life is set at 3 days.

There are numerous microbiological risks that may be present in raw milk, so raw milk is considered a dangerous food for the health of the consumer if the established criteria are not strictly fulfilled, especially refrigeration and boiling process, before consumption.

It is recommended the inclusion of a warning to avoid that the consumption of raw milk without following the required measures poses a health risk.

Key words

Raw milk, *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, STEC, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, microbiological risk.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo) Fernández, P., Alonso, C., Franco, C.M., González, E., Rodríguez, D. y Ruiz, M.J. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la idoneidad de los requisitos adicionales de higiene aplicables a la leche cruda destinada a la venta directa al consumidor final. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2020, 31, pp: 11-32.

1. Introducción

El Reglamento (CE) N° 853/2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal, permite la comercialización de leche cruda para consumo humano directo, es decir, sin tratamiento previo, y dispone los requisitos sanitarios que debe cumplir (UE, 2004a). Además, determina que los Estados miembros de la Unión Europea pueden regular mediante normas específicas, prohibir o limitar la comercialización de leche cruda destinada al consumo humano directo. Hasta la fecha, en España no se ha hecho uso de esta posibilidad y, por tanto, actualmente la comercialización de leche cruda directamente al consumidor está autorizada en base a dicho Reglamento, para lo cual se deben cumplir los requisitos establecidos en el mismo.

Por otro lado, la legislación de la Unión Europea ofrece la posibilidad de que sus Estados miembros regulen con requisitos más flexibles (menos estrictos) en el caso del suministro de pequeñas cantidades de leche cruda destinada directamente al consumidor final o al comercio minorista por parte del productor. España tampoco ha hecho uso de esta posibilidad y, por tanto, actualmente se puede vender la leche cruda, independientemente del volumen, siempre que se cumpla con todos los requisitos que la Unión Europea establece, y que vienen siendo aplicables desde el año 2006 (BOE, 2006).

En algunos Estados miembros de la Unión Europea se permite la venta de leche cruda cumpliendo con el Reglamento (CE) N° 853/2004, en otros se deben cumplir además los criterios adicionales establecidos a nivel nacional y en otros países está prohibida la venta de leche cruda para consumo humano directo.

La situación actual en España permite la comercialización de leche cruda sin ningún requisito adicional al citado Reglamento.

Pese a estar autorizado, en cuanto a la evaluación del riesgo, los informes científicos de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2015), y del Comité Científico de AESAN (AESAN, 2015) ponen de manifiesto que el consumo de leche cruda supone un riesgo para la salud de los consumidores.

Es por ello que diversos Estados miembros de la Unión Europea, como Francia, Italia, Austria, Finlandia y Letonia han limitado la comercialización de leche cruda mediante requisitos adicionales sobre información al consumidor, limitaciones de sistemas de venta y el establecimiento de criterios microbiológicos.

La AESAN solicita a su Comité Científico que realice un informe en el que valore si las medidas de gestión del riesgo relacionadas con la leche cruda destinada a la venta directa al consumidor final, propuestas para ser incorporadas en el proyecto de Real Decreto por el que se regularán y flexibilizarán determinadas condiciones de aplicación de las disposiciones de la Unión Europea en materia de higiene de la producción y comercialización de los productos alimenticios y se regularán actividades excluidas de su ámbito de aplicación, son adecuadas para proporcionar un elevado nivel de protección a los consumidores o si, de otro modo, es necesario prohibir la comercialización de leche cruda destinada a la venta directa al consumidor final en España.

2. Propuesta de requisitos adicionales de higiene para la comercialización de leche cruda destinada a la venta directa al consumidor final

Actualmente, en España y de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 853/2004, está permitida la comercialización de leche cruda en la Unión Europea, por lo que la AESAN considera necesario establecer requisitos adicionales a los recogidos actualmente en la normativa para la leche cruda destinada a la venta directa al consumidor que permitan garantizar su consumo seguro o, por el contrario, prohibir su comercialización.

Los requisitos adicionales para la comercialización de leche cruda destinada a la venta directa al consumidor propuestos por la AESAN son:

1. La comercialización de leche cruda destinada a la venta directa al consumidor podrá realizarse por establecimientos autorizados e inscritos en el Registro General Sanitario de Empresas Alimentarias y Alimentos (RGSEAA). De acuerdo con el Reglamento (CE) N° 852/2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004 (UE, 2004b), el Reglamento (CE) N° 853/2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004 (UE, 2004a), la normativa nacional en relación con los controles que deben cumplir los operadores del sector lácteo y lo establecido a continuación en cuanto a criterios microbiológicos de seguridad aplicables a la leche cruda:

Tabla 1. Criterios microbiológicos de seguridad propuestos para la comercialización de leche cruda

Microorganismo	Plan de muestreo (*)		Límite (**)	Método de análisis de referencia	Estadio de aplicación del criterio
	n	c	M		
<i>Campylobacter</i> spp.	5	0	Ausencia en 25 ml	UNE-EN ISO 10272-1	Producto comercializado durante su vida útil
<i>E. coli</i> STEC O157	5	0	Ausencia en 25 ml	UNE-EN ISO 16654	Producto comercializado durante su vida útil
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	Ausencia en 25 ml	UNE-EN ISO 11290-1	Producto comercializado durante su vida útil
<i>Salmonella</i>	5	0	Ausencia en 25 ml	UNE-EN ISO 6579	Producto comercializado durante su vida útil

(*) n= número de unidades que constituyen la muestra; c= número de unidades de muestreo que dan valores superiores a M.

(**) Los límites indicados se aplican a cada unidad de muestra analizada.

Interpretación de los resultados de los análisis:

Resultado satisfactorio: cuando todos los valores observados indican la ausencia de la bacteria.

Resultado insatisfactorio: cuando la bacteria se detecta, al menos, en una unidad de muestra.

Frecuencias de muestreo: los análisis de los criterios de seguridad deberán efectuarse al menos una vez al mes.

2. La leche cruda deberá presentarse para su venta al consumidor final, siempre envasada. El cierre de los envases se realizará inmediatamente después de su llenado mediante un dispositivo de cierre que impida su contaminación y estará concebido de tal forma que, una vez que ha sido abierto sea fácil comprobar esta circunstancia.

3. Sin perjuicio de lo establecido en la normativa general de etiquetado de los productos alimenticios, en los envases que contengan leche cruda deberá aparecer claramente la fecha de envasado y las siguientes indicaciones: "Leche cruda sin tratamiento térmico: hervir antes de consumir" y "Conservar en refrigeración entre 1 y 4 °C".
4. Los establecimientos de restauración que sirvan alimentos a colectividades vulnerables como hospitales, escuelas infantiles, colegios o residencias de ancianos, no podrán utilizar leche cruda como materia prima.
5. Los titulares de las explotaciones productoras de leche no podrán suministrar leche cruda de su propia explotación directamente al consumidor final ni a establecimientos de comercio al por menor que suministren directamente al consumidor final, salvo que cumplan con lo establecido en los apartados 1 a 4 anteriores.

3. Evaluación de la adecuación de los criterios microbiológicos propuestos

3.1 Consideraciones generales del riesgo asociado a la leche cruda

El consumo de leche cruda se ha visto asociado a enfermedades de transmisión alimentaria. Así, en la Unión Europea, en el periodo entre los años 2007-2012 se asoció con 27 brotes, 4 de ellos con leche de cabra y el resto con leche de vaca (EFSA, 2015), mientras que en Estados Unidos en el periodo 2005-2016 se asoció con 152 brotes, 5 producidos por el consumo de leche de cabra (Whitehead y Lake, 2018). Tras la revisión de los principales peligros biológicos asociados al consumo de leche cruda, se han identificado dos informes previos publicados por AESAN (2015) y EFSA (2015). En ellos se establece que los principales agentes biológicos asociados a enfermedades transmitidas por el consumo de leche cruda en la Unión Europea son *Campylobacter* spp. (termofílicas), *Salmonella* spp., *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC) y *Listeria monocytogenes*. En la Unión Europea en el periodo 2007-2012 de los 27 brotes asociados al consumo de leche cruda, 21 de ellos se atribuyeron a *Campylobacter* spp., por lo que se puede considerar como el agente etiológico involucrado con mayor frecuencia, seguido de *E.coli* STEC (EFSA, 2015) (Tabla 2, Anexo I). También existen estudios sobre su incidencia en la leche cruda, que presenta una importante variabilidad (Tabla 3, Anexo I).

En España se han realizado diversos estudios de la prevalencia de estos agentes en tanques de leche cruda y diversos productos. Los datos más antiguos de presencia de *L. monocytogenes* en España fueron publicados por Lucas Domínguez y colaboradores en 1985 señalándose valores del 45 % de presencia de este patógeno en muestras de leche cruda procedentes de una única granja (Domínguez-Rodríguez et al., 1985). Datos posteriores de muestreos que han englobado un mayor número de granjas han acabado por concretar la incidencia de *L. monocytogenes* en el 3,6 % de muestras de leche cruda de vaca (Gaya et al., 1998), en el 2,19 % de muestras de leche cruda de oveja (Rodríguez et al., 1994) y un 2,56 % de muestras de leche de cabra (Gaya et al., 1996). Datos más recientes confirman valores similares de prevalencia de *L. monocytogenes* en leche cruda, oscilando entre el 3 % de incidencia en leche de oveja y el 6,8 % en leche de vaca en Navarra (Vitas et al., 2004) o el 6,1 % en leche de vaca en Galicia (Vilar et al., 2007). En relación con la prevalencia de *Salmonella* en leche cruda, dicha prevalencia en principio parece ser significativamente más baja, así Gaya y colaboradores (Gaya et al., 1987) no consiguieron aislar salmonelas en leche cruda de

cabra, a pesar de identificar múltiples enterobacterias, tampoco Cortés y colaboradores en trabajos más recientes consiguieron aislar *Salmonella* ni *Campylobacter* en leche cruda de cabra ni tampoco en heces (Cortés et al., 2006). Otro estudio en leche y productos lácteos almacenados a temperatura ambiente muestreados de restaurantes en España tampoco pudieron aislar *Salmonella* a pesar de exceder el límite de bacterias mesófilas (Sospedra et al., 2009).

3.2 ¿El criterio microbiológico para cada uno de ellos garantizaría una protección elevada respecto a dichos patógenos?

En base a lo indicado y a la consulta realizada, “Valoración de si las medidas de gestión del riesgo relacionadas con leche cruda destinada a la venta directa al consumidor final son adecuadas para proporcionar un elevado nivel de protección a los consumidores o si es necesario prohibir la comercialización en España”, el Comité Científico realiza la siguiente valoración:

Los criterios propuestos se centran en los principales riesgos microbiológicos asociados a enfermedades de transmisión alimentaria relacionados con el consumo de leche cruda en los últimos años en Europa. El plan de muestreo y límites propuestos dan lugar a una baja incidencia de dichos patógenos en el producto. En caso de grandes lotes se podrá establecer un muestreo por cada lote. Considerando el nivel de significación estadística alcanzado con los criterios microbiológicos establecidos, si se tomara una muestra mensual durante 1 año de cualquiera de los microorganismos incluidos, el límite superior del intervalo de confianza sería del 4,8 % de muestras positivas (nivel de confianza de 0,95) (calculadora de Red BIOQURA, 2019). Por tanto, cabe esperar una incidencia muy baja. Se ha evaluado la posibilidad de incrementar “n” en el plan de muestreo, dado el riesgo para la salud de algunos de los patógenos considerados, de acuerdo con las recomendaciones del *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF).

Estos criterios microbiológicos, si bien lograrían que se alcance un bajo nivel de contaminación para dichos patógenos, no serían suficientes por sí mismos para garantizar un elevado nivel de seguridad al consumidor sin medidas adicionales, dado que la presencia de *Salmonella*, *E. coli* STEC, *Campylobacter* u otros patógenos que pudieran estar presentes suponen un riesgo para la salud del consumidor.

Las otras medidas propuestas exigidas para la comercialización, indicar “Leche cruda sin tratamiento térmico: hervir antes de consumir” y “Conservar en refrigeración entre 1 y 4 °C”, minimizarían los riesgos microbiológicos asociados a dicho producto, dado que:

- El tratamiento térmico a aplicar antes de consumir (en el que se alcanzaría una temperatura de 100 °C) inactivaría de forma efectiva todos los riesgos biológicos presentes, tanto los señalados en los criterios microbiológicos como los incluidos en el apartado 4, salvo algunos microorganismos patógenos esporulados, (algunas cepas de *Bacillus cereus*). Se ha establecido que un tratamiento térmico a 72 °C durante 2 minutos sería suficiente para la inactivación de bacterias patógenas vegetativas (Rosnes et al., 2012), por lo que siguiendo la recomendación de hervir el producto se superaría este requisito.
- No obstante, es necesario tener en cuenta la temperatura de conservación de la leche desde el momento de compra al almacenamiento en el hogar y en las empresas donde se obtiene. Diversos estudios ponen de manifiesto diferencias e incluso el abuso de temperatura durante estas

fases y el consiguiente efecto en el crecimiento de *L. monocytogenes*, por lo que se considera necesario establecer una vida útil adecuada y verificar dicha temperatura.

- Se ha llevado a cabo una predicción de crecimiento de *L. monocytogenes/L. innocua* a 4 °C en condiciones idóneas (Tabla 4) en www.ComBase.cc y se ha observado que el periodo de latencia ajustado mediante el modelo de Baranyi y Roberts (1994) es de 99,6 horas a 4 °C y, considerando una temperatura superior a la indicada (7 °C), no se alcanzaría en 72 horas un crecimiento de 100 UFC/ml. El resto de los patógenos incluidos en los criterios microbiológicos presentan una tasa de crecimiento igual a 0 a esa temperatura de almacenamiento, por lo que se ha considerado a *L. monocytogenes* como el microorganismo a considerar en este caso. Teniendo en consideración la incertidumbre asociada a la tasa de crecimiento de *L. monocytogenes* (www.Combase.cc), se considera adecuado establecer una vida útil de 3 días (calculada desde el ordeño), periodo en el que no se produciría crecimiento de *L. monocytogenes* o éste sería muy limitado. El mantenimiento en refrigeración entre 1 y 4 °C durante la vida útil recomendada (3 días) no permitiría una proliferación significativa de ninguno de los microorganismos esporulados que hubieran podido sobrevivir al tratamiento térmico (*B. cereus*).
- Se considera importante establecer unos criterios higiénicos que recojan que las células somáticas sean inferiores o igual a 300 000/ml (media geométrica de una muestra al mes durante 3 meses) y bacterias a 30 °C inferiores o igual a 50 000 bacterias por ml (media geométrica de dos muestras al mes durante al menos 2 meses) para el caso de leche procedente de ganado vacuno. Para la leche de ganado ovino se debe exigir un valor inferior o igual a 250 000 bacterias a 30 °C por ml (media geométrica de 2 meses con al menos dos muestras por mes). A este respecto, el Reglamento (CE) N° 853/2004 permite hasta 400 000 células somáticas por ml y hasta 100 000 UFC/ml de bacterias en leche cruda a los productores. Una mayor calidad higiénica en la venta directa de leche cruda a los consumidores sería muy importante y debería de estar en la norma, lo cual implicaría que sólo las mejores explotaciones con una higiene global mayor pueden vender esa leche. Las células somáticas en leche son indicadoras de mastitis, tanto clínicas como subclínicas, siendo identificados como agentes causales de mastitis bacterianas como *L. monocytogenes* tanto en ganado vacuno (Fedio et al., 1990) como en pequeños rumiantes (Fthenakis et al., 1998) así como *Campylobacter* (Gudmundson y Chirino-Trejo, 1993) o las enterobacterias (Ruegg, 2017). De este modo, muestras de leche cruda positivas a *E. coli* verotoxigénico o *L. monocytogenes* han arrojado valores de células somáticas más altos que muestras de leche cruda negativas a estos patógenos (Steele et al., 1997). También diversos autores han puesto de manifiesto la utilidad del recuento de células somáticas, como indicador global de la higiene en la producción láctea, así según Ruegg (2003) la mayoría de las granjas con valores altos de células somáticas en tanque de frío eran operadas por granjeros clasificables como *rápidos* y *sucios*. También este mismo autor señala que los valores altos de células somáticas se correlacionan con mayor riesgo de tener residuos de antibióticos. Este último aspecto ha sido también puesto de manifiesto por otros autores (Schukken et al., 2003). Finalmente, y dado que uno de los agentes causantes de mastitis más importante es *S. aureus* (Ruegg, 2017) y que las enterotoxinas de este agente microbiano son termoestables, un bajo

número de células somáticas también indicarían una menor probabilidad de la presencia de estas sustancias que podrían no ser inactivadas durante el calentamiento/hervido de la leche por parte de los consumidores. Por otra parte, la justificación del empleo del recuento total de bacterias resulta directo ya que todos los patógenos que puedan estar presentes contribuyen a incrementar dicho indicador y cuanto más bajo sea su número, menor es la probabilidad de la presencia de patógenos. Esto ha sido puesto de manifiesto de forma clara para el caso de *L. monocytogenes* (Steele et al., 1997). La inclusión de estos criterios respecto al recuento de bacterias y células somáticas en la leche cruda de las explotaciones que comercializan leche cruda para venta directa es empleada como criterio en Cataluña (Genelitat, 2018), así como en diversas regiones de Italia como el Veneto (Veneto, 2005, 2012, 2017) y también en las regiones de Piamonte y Emilia-Romagna.

Estudios realizados en Italia señalan que el 40 % de los consumidores no sigue las recomendaciones de tratamiento térmico, consumiendo la leche cruda (Giacometti, 2015), por lo que se debe informar adecuadamente a los consumidores del producto de la necesidad de cumplir con estas medidas.

Tabla 4. Predicción de crecimiento de *L. monocytogenes*/*L. innocua* a las temperaturas indicadas y en condiciones óptimas de pH (se ha considerado pH 7 aunque puede variar en la leche) y a_w (se ha considerado 0,997) mediante la herramienta de predicción de cinéticas microbiológicas Combase

Temperatura (°C)	pH	a_w	Concentración (UFC/ml)	Latencia (horas)	Tiempo (horas) hasta 100 UFC/ml
4	7	0,997	10	99,6	158
6	7	0,997	10	67,7	104
7	7	0,997	10	54,6	85

Fuente: (www.combase.cc) (Baranyi y Tamplin, 2004).

4. Otros riesgos biológicos asociados con la leche cruda

¿Existen otros peligros adicionales con evidencia suficiente de suponer riesgo para la salud del consumidor, que no se contemplan en el criterio microbiológico?

- Pueden existir riesgos asociados a otros microorganismos patógenos que han sido vehiculados por este producto, tales como el virus de la encefalitis vírica transmitida por garrapatas (TBEV), *Corynebacterium* spp., *Toxoplasma gondii*, *Streptococcus equi* subsp. zoepidemicus, *Brucella melitensis* y *Mycobacterium bovis* (AESAN, 2015), que han dado lugar a enfermedades de transmisión alimentaria en la Unión Europea asociadas a leche cruda, aunque su incidencia se considera muy baja en la actualidad. También se ha descrito un brote en 2014 en Finlandia con 43 casos en el que el agente implicado fue *Yersinia pseudotuberculosis* (Pärn et al., 2015).
- La presencia y proliferación de *Staphylococcus aureus* puede dar lugar a la formación de su toxina, altamente resistente al calor y que no se inactivaría en el proceso de hervido. En un

estudio realizado por Zuflauf et al. (2018) en leche de vaca cruda en Suiza se detectó *S. aureus* en el 24,7 % de las muestras analizadas.

- También se ha detectado resistencia antimicrobiana en aislamientos de *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *E.coli* STEC y *S. aureus* a partir de leche cruda o equipos asociados a su obtención en varios países de la Unión Europea, lo que se considera un riesgo para la salud pública. Se han identificado cepas resistentes a antimicrobianos asociadas a un brote alimentario producido por leche cruda de búfala en la Unión Europea y a *E. coli* STEC en Estados Unidos.
- En el caso de la leche proveniente de pequeños rumiantes (ganado ovino y caprino), además de los riesgos identificados pueden existir otros adicionales. En este sentido, *Brucella melitensis* sería importante en el caso de la leche de oveja, si bien dada su baja incidencia en la actualidad el riesgo se puede considerar muy bajo.
- Existen riesgos emergentes que pueden dar lugar a nuevos peligros biológicos en la leche cruda. Se han descrito casos de vacunación mediante cepas atenuadas en vacuno que se han activado, dando lugar a la aparición de enfermedades, que pueden transmitirse a través de la leche cruda.
- También se han descrito riesgos tales como la fiebre Q causada por *Coxiella burnetti* asociados a la leche cruda.
- Aunque en menor medida que en el caso de riesgos microbiológicos de origen bacteriano, también se han descrito casos y brotes alimentarios de origen vírico y parasitario asociados al consumo de leche cruda. En este sentido, el primer brote alimentario de origen vírico documentado se describió en la segunda década del siglo pasado en el Reino Unido por el consumo de leche contaminada con el virus de la polio. Más recientemente, se ha descrito en distintos países de la Unión Europea (Alemania, Eslovaquia y Polonia) tanto la presencia del virus de la encefalitis transmitida por garrapatas en leche de distintas especies de mamíferos como casos y brotes asociados al consumo de leche cruda contaminada por ese agente (Brockmann et al., 2018) (Dorko et al., 2018) (Kerlik et al., 2018) (Klaus et al., 2019) (Król et al., 2019). Asimismo, fuera de las fronteras de la Unión Europea se ha detectado la presencia de anticuerpos y del ARN del virus de la hepatitis E (Huang et al., 2016) (Long et al., 2017) (Demirci et al., 2019), de rotavirus (Yolken et al., 1985), e incluso de norovirus humanos (Yavermanesh et al., 2015). En relación con parásitos, también se han descrito casos y brotes alimentarios asociados al consumo de leche cruda. Existe abundante evidencia de la presencia y posible transmisión de *Toxoplasma gondii* a través de leche cruda de distintas especies de mamíferos o productos lácteos derivados de leche cruda sin pasteurizar (Boughattas, 2017) (Saad et al., 2018) (Da Costa et al., 2019) (Gazzonis et al., 2019) (Iacobucci et al., 2019) (Pinto-Ferreira et al., 2019). También se han descrito tanto la presencia de *Cryptosporidium parvum* en leche cruda como casos de brotes de criptosporidiosis asociados al consumo de leche cruda en distintos países entre los que se encuentran Estados Unidos, Reino Unido o Suiza (Palmer, 1990) (Baumgartner et al., 2000) (Rosenthal et al., 2015). Asimismo, infecciones asociadas a otros protozoos (por ejemplo, *Giardia dudonealis*, *Eimeria* spp. o *Cyclospora*) no pueden descartarse debido a que se ha descrito su presencia en la leche de diferentes especies de mamíferos.

Muchos de estos riesgos microbiológicos pueden ser especialmente graves para consumidores especialmente susceptibles, dado que, en caso de sufrir una enfermedad de transmisión alimentaria, ésta se manifestaría con una mayor gravedad.

Todo ello pone de manifiesto que la leche cruda puede ser vehículo de multitud de enfermedades transmisibles al consumidor si no se aplican correctamente las medidas de control propuestas, por lo que resulta adecuado establecer restricciones adicionales para su uso en poblaciones de riesgo.

Conclusiones del Comité Científico

Las medidas de gestión del riesgo relacionadas con leche cruda destinada a la venta directa al consumidor final propuestas (criterios microbiológicos, obligatoriedad de envasar la leche e indicar en el etiquetado “Leche cruda sin tratamiento térmico: hervir antes de consumir” y “Conservar en refrigeración entre 1 y 4 °C”) se pueden considerar, en el caso de que se cumplan todas ellas, adecuadas para proporcionar un elevado nivel de protección a los consumidores de este producto. Además, suponen una mejora respecto a la situación actual, en la que tan solo se exige el cumplimiento del Reglamento (CE) N.º 853/2004.

La evaluación de las cinéticas de crecimiento de los patógenos considerados a 4, 6 y 7 °C en base a datos bibliográficos muestran que el periodo de latencia predicho daría lugar, en el caso más desfavorable, a un crecimiento inferior a los niveles autorizados (considerando a *Listeria monocytogenes* como el microorganismo de referencia). Por ello se recomienda establecer una vida útil de 3 días.

Existen numerosos riesgos microbiológicos que pueden estar presentes en la leche cruda (tanto bacterianos como víricos), habiéndose identificado incluso posibles riesgos emergentes. Por ello, se considera que la leche cruda es un alimento peligroso para la salud del consumidor si no se cumplen de forma estricta los criterios establecidos, especialmente la refrigeración y el proceso de hervido de la leche antes de su consumo. Se recomienda incluir en el etiquetado una advertencia para evitar que el consumo de leche cruda sin seguir las medidas exigidas pueda suponer un riesgo para la salud.

Referencias

- Adams, N.L., Byrne, L., Smith, G.A., Elson, R., Harris, J.P., Salmon, R. y Jenkins, C. (2016). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157, England and Wales, 1983-2012. *Emerging Infectious Diseases*, 22 (4), pp: 590-597.
- AESAN (2015). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición sobre los riesgos microbiológicos asociados al consumo de leche cruda y productos lácteos elaborados a base de leche cruda. *Revista del Comité Científico*, 21, pp: 45-78.
- Baranyi, J. y Roberts, T.A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, 23 (3-4), pp: 277-294.
- Baranyi, J. y Tamplin, M.L. (2004). ComBase: A Common Database on Microbial Responses to Food Environments. *Journal of Food Protection*, 67 (9), pp: 1967-1971. doi: 0.4315/0362-028x-67.9.1967.
- Baumgartner, A., Marder, H.P., Munzinger, J. y Siegrist, H.H. (2000). Frequency of *Cryptosporidium* spp. as cause of human gastrointestinal disease in Switzerland and possible sources of infection. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 130 (36), pp: 1252-1258.

- BOE (2006). Real Decreto 640/2006, de 26 de mayo, por el que se regulan determinadas condiciones de aplicación de las disposiciones comunitarias en materia de higiene, de la producción y comercialización de los productos alimenticios. BOE 126 de 27 de mayo de 2006, pp: 19999-20002.
- Boughattas, S. (2017). Toxoplasma infection and milk consumption: Meta-analysis of assumptions and evidences. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57 (13), pp: 2924-2933. doi: 10.1080/10408398.2015.1084993.
- Brockmann, S.O., Oehme, R., Buckenmaier, T., Beer, M., Jeffery-Smith, A., Spannenkrebs, M., Haag-Milz, S., Wagner-Wiening, C., Schlegel, C., Fritz, J., Zange, S., Bestehorn, M., Lindau, A., Hoffmann, D., Tiberi, S., Mackenstedt, U. y Dobler, G. (2018). A cluster of two human cases of tick-borne encephalitis (TBE) transmitted by unpasteurised goat milk and cheese in Germany, May 2016. *Euro Surveillance*, 23 (15), pp: 00317-00336. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.15.17-00336.
- Claeys, W.L., Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., y Vandenplas, Y. (2013). Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food control*, 31, pp: 251-262.
- Cortés, C., de la Fuente, R., Contreras, A., Sánchez, A., Corrales, J.C., Martínez, S. y Orden, J.A. (2006). A survey of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in dairy goat faeces and bulk tank milk in the Murcia region of Spain. *Irish Veterinary Journal*, 59, pp: 391-393. doi: 10.1186/2046-0481-59-7-391.
- Da Costa, M.A., Pinto-Ferreira, F., de Almeida, R.P.A., Martins, F.D.C., Pires, A.L., Mareze, M., Mitsuka-Breganó, R., Freire, R.L., da Rocha-Moreira, R.V., Borges, J.M. y Navarro, I.T. (2019). Artisan fresh cheese from raw cow's milk as a possible route of transmission in a toxoplasmosis outbreak, in Brazil. *Zoonoses Public Health*, Nov 2. doi: 10.1111/zph.12660.
- D'Amico, D.J., Groves, E. y Donnelly, C.W. (2008). Low incidence of foodborne pathogens of concern in raw milk utilized for farmstead cheese production. *Journal of Food Protection*, 71, pp: 1580-1589.
- Demirci, M., Yiğın, A., Ünlü, Ö. y Kılıç-Altun, S. (2019). Detection of HEV RNA amounts and genotypes in raw milks obtained from different animals. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 53 (1), pp: 43-52. doi: 10.5578/mb.67468.
- Domínguez-Rodríguez, L., Fernández-Garayzabal, J.F., Vázquez-Boland, J.A., Rodríguez-Ferri, E. y Suárez-Fernández, G. (1985). Isolation de micro-organismes du genre *Listeria* à partir de lait cru destiné à la consommation humaine. *Canadian Journal of Microbiology*, 31, pp: 938-941.
- Dorko, E., Hockicko, J., Rimárová, K., Bušová, A., Popadák, P., Popadáková, J. y Schréter, I. (2018). Milk outbreaks of tick-borne encephalitis in Slovakia, 2012-2016. *Central European Journal of Public Health*, 26 Suppl, pp: S47-S50. doi: 10.21101/cejph.a5272.
- EFSA (2009). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. *EFSA Journal*, 223.
- EFSA (2010). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. *EFSA Journal*, 8 (1): 1496.
- EFSA (2015). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific opinion on the public health risks related to the consumption of raw drinking milk. *EFSA Journal*, 13 (1): 3490.
- Fedio, W.M., Schoonderwoerd, M., Shute, R.H. y Jackson, H. (1990). A case of bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes*. *Canadian Veterinary Journal*, 31, pp: 773-775.
- Fthenakis, G.C., Saratsis, Ph., Tzora, A. y Linde, K. (1998). Naturally occurring subclinical ovine mastitis associated with *Listeria monocytogenes*. *Small Ruminant Research*, 31, (1), pp: 23-27.
- Gaya, P., Medina, M. y Núñez, M. (1987). Enterobacteriaceae, coliforms, faecal coliforms and salmonellas in raw ewes' milk. *Journal of Applied Bacteriology*, 62, pp: 321-326. doi:10.1111/j.1365-2672.1987.tb04927.x.
- Gaya, P., Saralegui, C., Medina, M. y Núñez, M. (1996). Occurrence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in raw caprine milk. *Journal of Dairy Science*. 79, pp: 1936-1941.
- Gaya, P., Sánchez, J., Medina, M. y Núñez, M. (1998). Incidence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in raw milk produced in Spain. *Food Microbiology*, 15, pp: 551-555.

- Gazzonis, A.L., Zanzani, S.A., Villa, L. y Manfredi, M.T. (2019). Toxoplasma gondii in naturally infected goats: Monitoring of specific IgG levels in serum and milk during lactation and parasitic DNA detection in milk. *Preventive Veterinary Medicine*, 170: 104738. doi: 10.1016/j.prevetmed.2019.104738.
- Generalitat (2018). Decreto 163/2018 de 17 de julio de venta directa de leche cruda de vaca. Diario Oficial de la Generalitat de Catalunya nº 7667 de 19 de julio de 2018.
- Germinario, C., Caprioli, A., Giordano, M., Chironna, M., Gallone, M.S., Tafuri, S., Minelli, F., Maugliani, A., Michelacci, V., Santangelo, L., Mongelli, O., Montagna, C. y Scavia, G. (on behalf of all participants of the Outbreak investigation team) (2016). Community-wide outbreak of haemolytic uraemic syndrome associated with Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O26:H11 in southern Italy, summer 2013. *Euro Surveillance*, 21 (38), pp: 30343. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.38.303432.
- Giacometti, F., Bonilauri, P., Amatiste, S., Arrigoni, N., Bianchi, M., Losio, M.N., Bilei, S., Cascone, G., Comin, D., Daminelli, P., Decastelli, L., Meriardi, G., Mioni, R., Peli, A., Petruzzelli, A., Tonucci, F., Piva, S. y Serraino, A. (2015). Human campylobacteriosis related to the consumption of raw milk sold by vending machines in Italy: Quantitative risk assessment based on official controls over four years. *Preventive Veterinary Medicine*, 121 (1-2), pp: 151-158.
- Gudmunson, J. y Chirino-Trejo, J.M. (1993). A case of bovine mastitis caused by *Campylobacter jejuni*. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 40 (1-10).
- Guh, A., Phan, Q., Randall, N., Purviance, K., Milardo, E., Kinney, S. y Cartter, M. (2010). Outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with raw milk, Connecticut, 2008. *Clinical Infectious Diseases*, 51, pp: 1411-1417.
- Harris, N.V., Kimball, T.J., Bennett, P., Johnson, Y., Wakely, D. y Nolan, C.M. (1987). *Campylobacter jejuni* enteritidis associated with raw goat's milk. *American Journal of Epidemiology*, 126, pp: 179-186.
- Heiman, K.E., Mody, R.K., Johnson, S.D., Griffin, P.M. y Gould, L.H. (2015). *Escherichia coli* O157 outbreaks in the United States, 2003-2012. *Emerging Infectious Diseases*, 21, pp: 1293-1301.
- Hill, B., Smythe, B., Lindsay, D. y Shepherd, J. (2012). Microbiology of raw milk in New Zealand. *International Journal of Food Microbiology*, 157 (2), pp: 305-308.
- Huang, F., Li, Y., Yu, W., Jing, S., Wang, J., Long, F., He, Z., Yang, C., Bi, Y., Cao, W., Liu, C., Hua, X. y Pan, Q. (2016). Excretion of infectious hepatitis E virus into milk in cows imposes high risks of zoonosis. *Hepatology*, 64 (2), pp: 350-359; doi: 10.1002/hep.28668.
- Iacobucci, E., Taus, N.S., Ueti, M.W., Sukhbaatar, L., Bastsukh, Z., Papageorgiou, S. y Fritz, H. (2019). Detection and genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* DNA within the milk of Mongolian livestock. *Parasitology research*, 118 (6), pp: 2005-2008. doi: 10.1007/s00436-019-06306-w.
- Jaakkonen, A., Salmenlinna, S., Rimhanen-Finne, R., Lundström, H., Heinikainen, S., Hakkinen, M. y Hallanvuo, S. (2017). Severe Outbreak of Sorbitol-Fermenting *Escherichia coli* O157 via Unpasteurized Milk and Farm Visits, Finland 2012. *Zoonoses and Public Health*, 64, pp: 468-475.
- Keene, W.E., Hedberg, K., Herriott, D.E., Hancock, D.D., McKay, R.W., Barrett, T.J. y Fleming, D.W. (1997). A prolonged outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infections caused by commercially distributed raw milk. *Journal of Infectious Diseases*, 176, pp: 815-818.
- Kerlik, J., Avdičová, M., Štefkovičová, M., Tarkovská, V., Pántiková-Valachová, M., Molčányi, T. y Mezencev, R. (2018). Slovakia reports highest occurrence of alimentary tick-borne encephalitis in Europe: Analysis of tick-borne encephalitis outbreaks in Slovakia during 2007-2016. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 26, pp: 37-42. doi: 10.1016/j.tmaid.2018.07.001.
- Klaus, C., Ziegler, U., Hoffmann, D., Press, F., Fast, C. y Beer, M. (2019). Tick-borne encephalitis virus (TBEV) antibodies in animal sera - occurrence in goat flocks in Germany, longevity and ability to recall immunological information after more than six years. *BMC veterinary research*, 6, 15 (1), pp: 399. doi: 10.1186/s12917-019-2157-5.
- Król, M.K., Borawski, B., Nowicka-Cietuszecka, A., Tarasiuk, J. y Zajkowska, J. (2019). Outbreak of alimentary tick-borne encephalitis in Podlaskie voivodeship, Poland. *Przegląd Epidemiologiczny*, 73 (2), pp: 239-248.

- Long, F., Yu, W., Yang, C., Wang, J., Li, Y., Li, Y. y Huang, F. (2017). High prevalence of hepatitis E virus infection in goats. *Journal of Medical Virology*, 89 (11), pp: 1981-1987. doi: 10.1002/jmv.24843.
- Lorusso, V., Dambrosio, A., Quaglia, N.C., Parisi, A., La Salandra, G., Lucifora, G., Mula, G., Virgilio, S., Carosielli, L., Rella, A., Dario, M., Normanno, G. y Dario, M. (2009). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O26 in raw water buffalo (*Bubalus bubalis*) milk products in Italy. *Journal of Food Protection*, 72, pp: 1705-1708.
- Marler, C. (2007). *Campylobacter* in the food and water supply: prevalence, outbreaks, isolation, and detection. En libro: *Campylobacter jejuni: New perspectives in molecular and cellular biology*. Ketley, J. & Konkel M.E. (Eds.). Horizon Scientific Press. Norfolk, Reino Unido.
- Mungai, E.A., Behraves, C.B. y Gould, L.H. (2015). Increased outbreaks associated with nonpasteurized milk, United States, 2007-2012. *Emerging Infectious Diseases*, 21 (1), pp: 119-122.
- Mylius, M., Dreesman, J., Pulz, M., Pallasch, G., Beyrer, K., Claußen, K. y Flieger, A. (2018). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O103: H2 outbreak in Germany after school trip to Austria due to raw cow milk, 2017—The important role of international collaboration for outbreak investigations. *International Journal of Medical Microbiology*, 308 (5), pp: 539-544.
- Palmer, S.R. y Biffin, A.H. (1990). Cryptosporidiosis in England and Wales: prevalence and clinical and epidemiological features. Public Health Laboratory Service Study Group. *BMJ*, 300 (6727), pp: 774-777.
- Pärn, T., Hallanvuo, S., Salmenlinna, S., Pihlajasaari, A., Heikkinen, S., Telkki-Nykanen, H., Hakkinen, M., Ollgren, J., Huusko, S. y Rimhanen-Finne, R. (2015). Outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* O:1 infection associated with raw milk consumption, Finland, spring 2014. *Euro Surveillance*, 20 (40), pp: 30033.
- Pinto-Ferreira, F., Caldart, E.T., Pasquali, A.K.S., Mitsuka-Breganó, R., Freire, R.L. y Navarro, I.T. (2019). Patterns of Transmission and Sources of Infection in Outbreaks of Human Toxoplasmosis. *Emerging Infectious Diseases*, 25 (12), pp: 2177-2182. doi: 10.3201/eid2512.181565.
- Real Raw Milk Facts (2012). Outbreaks from foodborne pathogens in unpasteurized (raw) milk and raw milk cheeses, United States 1998-present. Disponible en: <https://realrawmilkfacts.com/PDFs/raw-dairy-outbreak-table.pdf> [acceso: 15-01-20].
- Robinson, T.J., Scheftel, J.M. y Smith, K.E. (2014). Raw milk consumption among patients with non-outbreak-related enteric infections, Minnesota, Estados Unidos, 2001-2010. *Emerging Infectious Diseases*, 20 (1), pp: 38-44.
- Rodríguez, J.L., Gaya, P., Medina, M. y Núñez, M. (1994). Incidence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in Ewes' Raw milk. *Journal of Food Protection*, 57 (7), pp: 571-575.
- Rosenthal, M., Pedersen, R., Leibsle, S., Hill, V., Carter, K. y Roellig, D.M. (2015). Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Notes from the field: cryptosporidiosis associated with consumption of unpasteurized goat milk - Idaho, 2014. *Morbidity Mortality Weekly Report*, 27, 64 (7), pp: 194-195.
- Rosnes, J.T., Fernández, P.S., Periago, P.M. y Skåra, T. (2012). En libro: *Microorganisms of relevance in thermally processed foods*. pp: 1-38. ValDRAMIDIS, V.P. & Van Impe, J.F.M. (Eds.). ISBN: 978-1-62100-842-2. Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, Nueva York, Estados Unidos.
- Ruegg, P.L. (2003). Practical food safety interventions for dairy production. *Journal of Dairy Science*, 86 (E. Suppl.), pp: E1-E9.
- Ruegg, P.L. (2017). A 100-Year Review: Mastitis detection, management and prevention. *Journal of Dairy Science*, 100, pp: 10381-10397.
- Saad, N.M., Hussein, A.A.A. y Ewida, R.M. (2018). Occurrence of *Toxoplasma gondii* in raw goat, sheep, and camel milk in Upper Egypt. *Veterinary World*, 11 (9), pp: 1262-1265. doi: 10.14202/vetworld.2018.1262-1265.
- Schukken, Y.H., Wilson, D.J., Welcome, F., Garrison-Tikofsky, L. y González, R.N. (2003). Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research*, 34, pp: 579-596.
- Sospedra, I., Rubert, J.V., Soler, C., Soriano, J.M. y Mañes, J. (2009). Microbial contamination of Milk and Dairy products from restaurants in Spain. *Foodborne Pathogens and Disease*, 6 (10). doi: 10.1089/fpd.2009.0337.

- Steele, M.L., McNab, W.B., Poppe, C., Griffiths, M.W., Chen, S., Degrandis, S.A., Fruhner, L.C., Larkin, C.A., Lynch, J.A. y Odumeru, J.A. (1997). Survey of Ontario Bulk tank milk for Food-Borne Pathogens. *Journal of Food Protection*, 60 (11), pp: 1341-1346.
- UE (2004a). Reglamento (CE) N° 853/2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DO L 139 de 30 de abril de 2004, pp: 55-205.
- UE (2004b). Reglamento (CE) N° 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, relativo a la higiene de los productos alimenticios. DO L 139 de 30 de abril de 2004, pp: 1-54.
- Veneto (2005). Deliberazione della Giunta Regionale n° 2950 del 11 ottobre 2005. Linee guida per la vendita di latte crudo dal produttore agricolo al consumatore finale. Bollettino Ufficiale della Regione del Veneto n° 103 de 01/11/2005.
- Veneto (2012). Deliberazione della Giunta Regionale n° 513 del 03 aprile 2012. Disposizione per la disciplina della vendita diretta di latte crudo dal produttore agricolo al consumatore finale. Sostituzione deliberazione n° 2950 del 11 ottobre 2005. Bollettino Ufficiale della Regione del Veneto n° 32 de 24/04/2012.
- Veneto (2017). Deliberazione della Giunta Regionale n° 2162 del 29 diciembre 2017. Scheda Tecnica A7. Produzione di Latte crudo, latte trattato termicamente e prodotti lattiero caseari "PPL Venete" di malga e di piccolo caseifici aziendali. Bollettino Ufficiale della Regione del Veneto de 23/01/2018.
- Vilar, M.J., Yus, E., Sanjuan, M.L., Diéguez, F.J. y Rodríguez-Otero, J.L. (2007). Prevalence of and Risk Factors for *Listeria* Species on Dairy Farms. *Journal of Dairy Science*, 90, pp: 5083-5088.
- Vitas, A.I. y Garcia-Jalon, V.A. (2004). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). *International Journal of Food Microbiology*, 90, pp: 349-356.
- Whitehead, J. y Lake, B. (2018). Recent Trends in Unpasteurized Fluid Milk Outbreaks, Legalization, and Consumption in the United States. *PLOS Currents Outbreaks*, 13 (10).
- Yavarmansh, M., Alum, A. y Abbaszadegan, M. (2015). Occurrence of Noroviruses and Their Correlation with Microbial Indicators in Raw Milk. *Food and Environmental Virology*, 7 (3), pp. 232-238. doi: 10.1007/s12560-015-9185-5.
- Yolken, R.H., Losonsky, G.A., Vonderfecht, S., Leister, F. y Wee, S.B. (1985). Antibody to human rotavirus in cow's milk. *The New England Journal of Medicine*, 312 (10), pp: 605-610.
- Zuflauf, M., Zweifel, C. y Stephan, R. (2018). Microbiological quality of raw milk sold directly from farms to consumers in Switzerland. *Journal of Food Safety and Food Quality*, 69, pp: 140-144.

Anexo I

Tabla 2. Brotes de campilobacteriosis asociados el consumo de leche cruda en los que se especifica la especie

Leche cruda Especie	Incidencia	Año	País	Referencia
Cabra	4 casos	1983	Estados Unidos	Harris et al. (1987)
Cabra	3 casos	1991	Estados Unidos	Marler (2007)
Cabra	11 casos, 3 hospitalizados	2005	Estados Unidos	Real Raw Milk Facts (2012)
Vaca	18 casos	2007	Países Bajos	EFSA (2015)
Vaca	2 brotes, 12 casos	2007	Dinamarca	EFSA (2015)
Vaca	4 casos	2007	Finlandia	EFSA (2015)
Vaca	14 casos	2007	Alemania	EFSA (2015)
Vaca	2 casos	2008	Austria	EFSA (2015)
Vaca	45 casos	2008	Alemania	EFSA (2015)
Vaca	8 casos	2008	Países Bajos	EFSA (2015)
Vaca	6 casos	2010	Eslovaquia	EFSA (2015)
Vaca	3 brotes, 42 casos	2010	Alemania	EFSA (2015)
Cabra	4 casos	2010	Países Bajos	EFSA (2015)
Vaca	15 casos	2010	Estados Unidos	Real Raw Milk Facts (2012)
Vaca	10 casos	2010	Estados Unidos	Real Raw Milk Facts (2012)
Vaca	12 casos	2010	Estados Unidos	Real Raw Milk Facts (2012)
Vaca	3 brotes, 32 casos	2011	Alemania	EFSA (2015)
Vaca	13 casos	2011	Suecia	EFSA (2015)
Vaca	5 casos	2011	Estados Unidos	Real Raw Milk Facts (2012)
Vaca	8 casos	2011	Estados Unidos	Real Raw Milk Facts (2012)
Vaca	18 casos	2011	Estados Unidos	Real Raw Milk Facts (2012)
Vaca	11 casos	2012	Dinamarca	EFSA (2015)
Cabra	18 casos	2012	Estados Unidos	Real Raw Milk Facts (2012)
Vaca	3 casos	2012	Alemania	EFSA (2015)
Vaca	2 brotes, 22 casos	2012	Alemania	EFSA (2015)
Vaca	80 casos	2012	Estados Unidos	Real Raw Milk Facts (2012)

Tabla 3. Prevalencia de microorganismos en la producción de leche cruda

Leche cruda	Incidencia	Localización toxina en granja	País	Efectos tóxicos	Observaciones	Referencia
Escherichia coli 0157						
Búfala (<i>Bubalus bubalis</i>)	1/160 (0,6 %)	Heces en granja	Italia	No HUS	<i>Verotoxina: O26 VTEC</i> Para producción de mozzarella <i>Resistencia:</i> Vancomicina, teicoplanina, ampicilina espiramicina y eritromicina	Lorusso et al. (2009)
Bovino	20 casos en niños	No hay datos	Italia	HUS, 2 niños secuelas neurológicas graves	<i>Verotoxina: O26:H11</i> <i>E. coli</i> O26 con genes <i>Stx2</i> tienen, en niños, una alta probabilidad de progresar a HUS	Germinario et al. (2016)
Vaca	78 brotes con un único agente, 13 (17 %) por <i>E. coli</i> . 1 brote múltiple: STEC O157:H7 y <i>Campylobacter</i>	No hay datos	Estados Unidos: 2007-2012	Un total de 106 pacientes afectados. 34 % pacientes entre 5-19 años y 28 % en niños entre 1-4 años	<i>E. coli</i> serogrupos: O157 (10 brotes), O111 (1 brote), O26:H11 (1 brote), O157:H7 y O121 (1 brote)	Mungai et al. (2015)
Vaca	0-5,7 % Brotes entre 1970-2010: 13 (Europa) y 28 (mundo). Según EFSA (2009, 2010): entre 0-2 %	Tanque de leche a granel. La concentración depende del método de cultivo utilizado, etc.	Europa	Diarrea, vómitos, náuseas, fiebre, calambres abdominales, etc. En casos severos HUS. La intoxicación crónica puede cursar con artritis reactiva o muerte	-	Claeys et al. (2013)
Vaca	No hay datos	No hay datos	Austria (2003)	2 casos de HUS (niño de 11 meses y niña de 28 meses)	<i>Verotoxina: O26:H</i> Consumo de leche cruda fría en buffet de hotel (<i>no permitido en restauración</i>). Según legislación se requiere hervir la leche antes de consumir y el hotel no indicó a sus consumidores que no estaba hervida	Mylilius et al. (2018)
Vaca	1 muestra de 297 totales presenta STEC no-O157:H7	Tanque de leche	Nueva Zelanda	-	El 99 % de las muestras presentan <100 UFC/ml y 1 muestra >1000 UFC/ml. Muestra positiva de STEC no-O157:H7 (STEC sin toxinas Shiga 1 y 2, ni genes <i>eae</i> o <i>hly</i> A)	Hill et al. (2012)

Tabla 3. Prevalencia de microorganismos en la producción de leche cruda

Leche cruda	Incidencia	Localización toxina en granja	País	Efectos tóxicos	Observaciones	Referencia
Vaca y oveja	5 casos	Se observa presencia de la bacteria en heces de vacas y ambiente tanto en el establo como en el exterior: piso de la sala de leche, mesa de alimentación, bebederos y refugio para ganado	Finlandia (Turku)	Hospitalización niños, 4 (67 %) con HUS	<i>Verotoxina</i> . SF 0157	Jaakkonen et al. (2017)
Cabra	0,75 % (1 muestra de 133) leche a granel	Tanque de leche	Estados Unidos (Vermont)	No hay datos	Estudio donde <i>E. coli</i> /O157:H7 se aisló de una muestra de leche de cabra (0,75 %) mediante enriquecimiento, lo que sugiere un nivel de contaminación <1 UFC/ml	D'Amico et al. (2008)
No específica	16 casos (1992-1993)	Venta clandestinas	Estados Unidos (Oregón)	1 hospitalización. Ningún HUS	-	Keene et al. (1997)
No específica	Periodo 1983-2012. Total: 335 brotes, 2 por leche cruda	No hay datos	Reino Unido (Inglaterra y Gales)	No hay datos	-	Adams et al. 2016
No específica	255 brotes, 16 por productos lecheros (11 %). De ellos 13 por leche cruda (81 %)	No hay datos	Estados Unidos: 2003-2012	140 enfermos, 52 hospitalizados y 22 diagnosticados de HUS	25 % de enfermos menores de 5 años. 47 % de ellos de 5-19 años	Heiman et al. (2015)
No específica	14 casos	Prácticas específicas preocupantes: embotellado manual de leche cruda directamente desde el tanque a granel, falta de jabón de manos y mal funcionamiento del agua caliente en el fregadero de la mano en la sala de almacenamiento donde ocasionalmente se produjo el embotellado manual, fallo en el taponado de las válvulas y presencia de una biopelícula dentro del tanque portátil	Estados Unidos (Connecticut). 2008	Diarrea, diarrea sanginolenta, vómitos, fiebre, calambres abdominales, etc. En casos severos HUS y TTP	5 pacientes (36 %): hospitalización; 1 paciente (20 %): TTP; 3 pacientes (21 %): HUS que requieren plasmateresis	Guh et al. (2010)

Tabla 3. Prevalencia de microorganismos en la producción de leche cruda

Leche cruda	Incidencia	Localización toxina en granja	País	Efectos tóxicos	Observaciones	Referencia
No específica	Brotos entre 2001-2010: de 530 casos, 19 (3,6 %) debido a <i>Escherichia coli</i> serogrupo O157 y 12 casos (2,3 %) a STEC no-O157	No hay datos	Estados Unidos (Minnesota)	-	Estudio en pacientes del Sistema de Salud de Minnesota con infecciones entéricas por STEC (incluyendo serogrupos O157 y no-O157). 1 paciente fue coinfectado con STEC O157 y <i>Campylobacter</i> spp. y 1 con STEC no O157 y <i>Campylobacter</i> spp. 4 pacientes (21 %): presentan HUS; De ellos 1 niño (11 meses) muere (**)	Robinson et al. (2014)
Vaca	78 brotes con un único agente, 62 (81 %) por <i>Campylobacter</i> spp.	No hay datos	Estados Unidos: 2007-2012	Un total de 756 pacientes afectados. Principal rango de edad implicado: 40 % pacientes entre 20-49 años, 32 % entre 5-19 años y 14 % en niños entre 1-4 años	El número de brotes por infecciones de <i>Campylobacter</i> spp. se duplicó en 6 años: de 22 (período 2007-2009) a 40 (período 2010-2012)	Mungai et al. (2015)
Vaca	0-6 % Brotos entre 1970-2010: 18 (Europa) y 39 (mundo)	Tanque de leche a granel. La concentración depende del método de cultivo utilizado, etc.	Europa	Diarrea, vómitos, náuseas, fiebre, calambres abdominales, etc. En casos excepcionales síntomas clínicos muy graves como el síndrome Guillain-Barré. La intoxicación crónica puede cursar con artritis reactiva o muerte	<i>Campylobacter jejuni</i> y <i>C. coli</i>	Claeys et al. (2013)
Vaca	1 muestra (0,34 %) de 296 totales presenta <i>Campylobacter</i>	Tanque de leche	Nueva Zelanda	-	-	Hill et al. (2012)

Tabla 3. Prevalencia de microorganismos en la producción de leche cruda

Leche cruda	Incidencia	Localización toxina en granja	País	Efectos tóxicos	Observaciones	Referencia
No específica	Brotos entre 2001-2010: de 530 casos, 407 (77 %) debido a <i>Campylobacter</i> spp.	No hay datos	Estados Unidos (Minnesota)	-	Estudio en pacientes del Sistema de Salud de Minnesota con infecciones entéricas por <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>C. coli</i> y <i>C. lari</i> . 9 pacientes fueron coinfectados con <i>Campylobacter</i> spp. y <i>Cryptosporidium</i> spp.; 1 con <i>Campylobacter</i> spp. y STEC 0157; 1 con <i>Campylobacter</i> spp. y STEC no 0157 y 1 con <i>Campylobacter</i> spp. y <i>Salmonella</i> spp. (**)	Robinson et al. (2014)
Salmonella						
Vaca	78 brotes con un único agente, 2 (3 %) por <i>Salmonella entérica</i> serotipo Typhimurium	No hay datos	Estados Unidos: 2007-2012	Un total de 13 pacientes afectados. 38 % (5) entre en niños entre 1-4 años y 1 paciente de menos de 1 año		Mungai et al. (2015)
Vaca	0-2,9 % Brotos entre 1970-2010: 5 (Europa) y 39 (mundo). Según EFSA (2010): <1 %	<1 % en el tanque de leche a granel	Europa	Diarrea, vómitos, náuseas, fiebre, calambres abdominales, etc. La intoxicación crónica puede cursar con artritis reactiva o muerte		Claeys et al. (2013)
No específica	Brotos entre 2001-2010: de 530 casos, 39 (7,4 %) debido a <i>Salmonella</i>	No hay datos	Estados Unidos (Minnesota)	-	Estudio en pacientes del Sistema de Salud de Minnesota con infecciones entéricas por <i>Salmonella entérica</i> serotipo Typhimurium, <i>S. entérica</i> serotipo Montevideo y <i>S. entérica</i> serotipo Newport. 1 paciente fue coinfectado con <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. (**)	Robinson et al. (2014)

Tabla 3. Prevalencia de microorganismos en la producción de leche cruda

Leche cruda	Incidencia	Localización toxina en granja	País	Efectos tóxicos	Observaciones	Referencia
Listeria monocytogenes						
Vaca	2,2-10,2 % Brotes entre 1970-2010: 0 (Europa) y 2 (mundo)	Tanque de leche a granel. La concentración depende del método de cultivo utilizado, etc.	Fuera de Europa	Diarrea, vómitos, náuseas, fiebre, calambres abdominales, etc. La intoxicación crónica puede cursar con artritis reactiva o muerte	<i>L. monocytogenes</i> detecta con frecuencia en la leche cruda, pero su importancia en términos de brotes debido al consumo de leche cruda de vaca es muy baja	Claeys et al. (2013)
Vaca	4,8 % (3 de 62 muestras de leche de vaca a granel) y en un 2,3 % (3 de 133 muestras) si se consideran los 3 tipos de leche del estudio (vaca, cabra, oveja)	La presencia de 2 subtipos sugiere la recontaminación de la leche de una fuente separada en lugar de la contaminación persistente. El tanque no presenta contaminación	Estados Unidos (Vermont)	-	Se aislaron 2 serotipos diferentes (DUP-1030B y DUP-1045B) de 3 muestras de leche de vaca (4,8 %) mediante enriquecimiento, lo que sugiere un nivel de contaminación <1 UFC/ml (*)	D'Amico et al. (2008)
Vaca	16 muestra de 295 totales presenta <i>Listeria</i> sp.	Tanque de leche	Nueva Zelanda	-	De las 16 muestras con <i>Listeria</i> , el 4 % corresponde a <i>L. innocua</i> y el 0,68 % a <i>L. monocytogenes</i> . En el caso de <i>L. monocytogenes</i> se cuantificó 1 UFC/4 ml. La contaminación por <i>Listeria</i> se debe al alojamiento de ganado en el interior, ensilaje mal hecho y mala higiene en la granja	Hill et al. (2012)

HUS: síndrome hemolítico-urémico; TTP: púrpura trombótica trombocitopénica; Población de riesgo: niños, ancianos, embarazadas, inmunodeprimidos.

(*) Los autores indican que la incidencia anual de *L. monocytogenes* puede estar subestimada, ya que la toma de muestra se ha realizado en verano y la contaminación por *Listeria* spp. parece aumentar en los meses de invierno mientras los animales están estabulados en interior, agrupados y alimentándose de ensilaje.

(**) Se observa un aumento en los casos de enfermedad entérica a asociados con el consumo de leche cruda durante los meses de verano (junio-agosto) en comparación con otras estaciones. Esta tendencia está en sintonía con la estacionalidad general de los patógenos entéricos incluidos en este estudio, y también es consistente con los datos de estudios recientes sobre la incidencia estacional de *Salmonella* spp. muestreo de tanques de leche a granel, vacas lecheras y entornos agrícolas y la tendencia estacional de desprendimiento fecal de *E.coli*/STEC O157 por ganado lechero.

