

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre las combinaciones tiempo-temperatura necesarias para el cocinado seguro de los alimentos y las temperaturas adecuadas para el mantenimiento en caliente y recalentamiento de las comidas preparadas

Número de referencia: AESAN-2021-004

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 17 de febrero de 2021

Grupo de trabajo

Elena González Fandos (Coordinadora), Carlos Alonso Calleja, Pablo Fernández Escámez, Sonia Marín Sillué, Magdalena Rafecas Martínez, David Rodríguez Lázaro y Pau Talens Oliag

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 tratamiento térmico juega un papel importante en la destrucción de microorganismos patógenos en alimentos. Por ello, la temperatura a la que se cocinan los alimentos, así como la duración (tiempo) tienen una especial relevancia desde el ámbito de la seguridad alimentaria.

Otro aspecto de gran importancia en seguridad alimentaria es la temperatura de conservación en caliente de comidas preparadas. Puesto que el cocinado no inactiva bacterias patógenas esporuladas, una temperatura inadecuada puede conllevar la multiplicación microbiana y, en consecuencia, suponer un factor de riesgo. La mayoría de los microorganismos patógenos pueden crecer en alimentos a temperaturas comprendidas entre 5 y 60 °C, rango de temperaturas que se considera potencialmente de riesgo.

La conservación en refrigeración y posterior recalentamiento de las comidas preparadas antes de su consumo son también factores a tener en cuenta, siendo necesario refrigerar lo antes posible,

mantener en refrigeración a temperaturas adecuadas y recalentar a una temperatura suficiente para inactivar bacterias patógenas. La refrigeración adecuada es esencial para prevenir el crecimiento de bacterias esporuladas que han sobrevivido al tratamiento térmico inicial.

Durante la preparación, cocinado y conservación de comidas preparadas es esencial mantener prácticas correctas de higiene, prestando especial atención a la limpieza y desinfección de utensilios y equipos, y a los manipuladores.

Las recomendaciones de combinaciones tiempo-temperatura de cocinado de los alimentos difieren entre distintos países e instituciones, así como en las publicaciones científicas. El Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) ha revisado las recomendaciones existentes y ha analizado el efecto de la combinación temperatura y tiempo en el crecimiento y destrucción de los principales microorganismos patógenos y parásitos en distintos alimentos (carne, productos de la pesca, huevos y ovoproductos, y vegetales). Además, se hace referencia desde el punto de vista de la seguridad alimentaria a la técnica de cocinado lento, conocida como *slow cooking*.

Tras esta revisión, el Comité Científico ha propuesto una serie de combinaciones tiempo-temperatura para el cocinado de carne, productos de la pesca, huevos y ovoproductos, y vegetales, considerando la temperatura a alcanzar en el centro del producto (punto más frío). Para el cocinado de la carne, se recomienda alcanzar una temperatura de 70 °C en el centro del alimento durante al menos 1 segundo (o tratamiento equivalente); en carne de aves se recomienda que dicha temperatura sea de 74 °C durante al menos 1 segundo (o tratamiento equivalente). Para el cocinado de pescado, se recomienda alcanzar una temperatura de 68 °C durante al menos 15 segundos en el centro del producto (o tratamiento equivalente); en el caso de pescados rellenos la temperatura a alcanzar en el centro del producto es de 74 °C durante al menos 15 segundos (o tratamiento equivalente). El cocinado de moluscos crudos debe realizarse a 90 °C durante al menos 90 segundos en agua hirviendo (o tratamiento equivalente). La temperatura interna adecuada para el cocinado de platos que contengan huevo es de 70 °C durante al menos 2 segundos (o tratamiento equivalente), tratamiento suficiente para no requerir el uso de ovoproductos pasteurizados, debiendo mantenerse a 8 °C durante un máximo de 24 horas. En el caso del cocinado de huevos cuyo consumo se realice de forma inmediata, se recomienda realizar el cocinado de forma que en el centro del producto se alcancen 63 °C durante al menos 20 segundos (o tratamiento equivalente), siendo esta recomendación aplicable a distintas preparaciones a base de huevo como huevos fritos y tortillas que, de forma cotidiana, pueden no llegar a cuajar completamente (siempre que se sirvan para su consumo de forma inmediata). En el cocinado de vegetales se considera adecuada la combinación de 70 °C durante al menos 2 minutos en el centro del producto (o tratamiento equivalente).

Para la conservación en caliente de las comidas preparadas se recomiendan temperaturas de al menos 63 °C. Las comidas preparadas, si no se van a mantener en caliente, deben ser refrigeradas de forma inmediata, alcanzando en el centro temperaturas de 4 °C en 2,5 horas y, posteriormente, se deben conservar a temperaturas de 4 °C o inferiores. El recalentamiento de comidas preparadas se debe realizar a temperaturas de al menos 74 °C en el centro del producto durante al menos 15 segundos. Desde el punto de vista de la inocuidad alimentaria, no se recomienda la utilización de sobras;

en el caso de haber procedido al enfriamiento y refrigeración en condiciones adecuadas, podrán utilizarse recalentando a temperaturas de al menos 74 °C durante 15 segundos en el centro del producto.

Si el cocinado o recalentamiento se realiza en microondas, el tiempo necesario es más prolongado que el indicado en los apartados anteriores.

Todas las recomendaciones son aplicables siempre y cuando se cumplan estrictas medidas higiénicas y las etapas previas se realicen de forma correcta (cocinado, enfriamiento, mantenimiento en refrigeración).

Palabras clave

Cocinado, seguridad alimentaria, patógenos, mantenimiento en caliente, enfriamiento, almacenamiento en refrigeración, recalentamiento, comidas preparadas, cocinado lento.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the time-temperature combinations necessary for the safe cooking of foods and adequate temperatures for the hot-holding and reheating of cooked foods

Abstract

Thermal treatment plays an important role in destroying pathogenic microorganisms in food. For this reason, both the temperature at which foods are cooked and the duration (time) thereof, have a special impact from a food safety perspective.

Another important aspect of food safety is the temperature for keeping cooked foods hot. Given that cooking does not inactivate spore-forming pathogenic bacteria, an inadequate temperature could lead to the microbial multiplication and, consequently, may constitute a risk factor. Most pathogenic microorganisms can grow in foods at temperature of between 5 and 60 °C, the range of temperatures that is considered a potential risk.

Refrigeration and subsequent reheating of cooked food before consumption are also factors to be taken into account. It is necessary to refrigerate as soon as possible, maintaining refrigeration at an adequate temperature and reheating at a sufficient temperature to inactivate pathogenic bacteria. Adequate refrigeration is essential to prevent the growth of spore-forming bacteria that have survived the initial thermal treatment.

During preparation, cooking and storage of cooked foods, it is essential to maintain good hygiene practices, paying special attention to the cleaning and disinfection of utensil and equipment and to handlers.

The recommended time-temperature combinations for cooking foods differ between different countries and institutions, much like the scientific publications. The Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) has reviewed the existing recommendations and analysed the effect of the temperature and time combination on the growth and destruction of the principal pathogenic microorganisms and parasites in different foods (meat, fishery products, eggs

and egg products and vegetables). There is also reference, from a food safety perspective, to the cooking technique known as “slow cooking”.

After this review, the Scientific Committee has proposed a series of time-temperature combinations for the cooking of meat, fish products, eggs and vegetables, considering the temperature to be reached in the centre of the product (coldest point). For the cooking of meat, it is recommended that a temperature of 70 °C is reached in the centre of the food for at least 1 second (or equivalent treatment); for poultry it is recommended that that temperature be 74 °C for at least 1 second (or equivalent treatment). For the cooking of fish, it is recommended that a temperature of 68 °C is reached for at least 15 seconds in the centre of the product (or equivalent treatment); in the case of stuffed fish, the temperature to be reached in the centre of the product is 74 °C for at least 15 seconds (or equivalent treatment). Raw molluscs should be cooked at 90 °C for at least 90 seconds in boiling water (or equivalent treatment). The adequate internal temperature for the cooking of dishes containing eggs is 70 °C for at least 2 seconds (or equivalent treatment), which is sufficient treatment to not require the use of pasteurised egg products, and they should be maintained at 8 °C for a maximum of 24 hours. In the case of cooking eggs for immediate consumption, it is recommended that they are cooked so that the centre of the product reaches a temperature of 63 °C for at least 20 seconds (or equivalent treatment). This recommendation applies to different egg-based preparations such as fried eggs and omelettes which, on daily basis, may not set completely (provided they are served for immediate consumption). For the cooking of vegetables, a combination of 70 °C for at least 2 minutes in the centre of the product (or equivalent treatment) is considered adequate.

A minimum temperature of 63 °C is recommended for keeping cooked foods hot. If cooked foods are not to be kept hot, they should be refrigerated immediately, reaching a temperature of 4 °C in 2.5 hours and should subsequently be maintained at 4 °C or lower. For reheating cooked foods, a temperature of at least 74 °C should be reached in the centre of the product for at least 15 seconds. From a food safety perspective, the use of leftovers is not recommended. However, where they have been cooled and refrigerated in adequate conditions, they may be reheated at a temperature of at least 74 °C for at least 15 seconds in the centre of the product.

If cooking or reheating using a microwave, the time necessary is longer than indicated in the above sections.

All the above recommendations are applicable at all times provided that strict hygiene measures have been correctly applied and the previous stages have been carried out correctly (cooking, cooling, refrigeration).

Key words

Cooking, food safety, pathogens, hot holding, cooling, refrigerated storage, reheating, food service, slow cooking.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo). González-Fandos, E., Alonso C., Fernández P., Marín, S., Rafecas M., Rodríguez D. y Talens, P. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre las combinaciones tiempo-temperatura necesarias para el cocinado seguro de los alimentos y las temperaturas adecuadas para el mantenimiento en caliente y recalentamiento de las comidas preparadas. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2021, 33, pp: 113-150.

1. Introducción

Una herramienta importante con la que contamos para destruir microorganismos patógenos en alimentos es el tratamiento térmico. Numerosos trabajos científicos abordan el efecto de la temperatura en la inactivación de microorganismos patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. o *Clostridium botulinum*, entre otros (Juneja et al., 2011). Por ello, la temperatura a la que se cocinan los alimentos, así como la duración (tiempo) tienen una especial relevancia desde el punto de vista de la seguridad alimentaria (Deak, 2014).

Un cocinado inadecuado puede conllevar la supervivencia de flora patógena y, en consecuencia, la posibilidad de un brote de enfermedad de transmisión alimentaria. De hecho, el cocinado inadecuado se enmarca como una de las posibles causas de brotes de enfermedades de transmisión alimentaria. Además, se ha puesto en evidencia que las prácticas incorrectas de higiene, así como el mantenimiento a temperaturas inadecuadas son factores contribuyentes en la aparición de brotes de enfermedades de transmisión alimentaria (Lund y O'Brien, 2009) (Gormley et al., 2012). Los datos epidemiológicos de brotes de transmisión alimentaria han permitido identificar cinco factores de riesgo relacionados con el comportamiento y prácticas de elaboración en los establecimientos de preparación y venta de alimentos (FDA, 2017):

- Los alimentos contaminados.
- Los utensilios y equipos contaminados.
- La falta de higiene en el personal.
- El cocinado inadecuado.
- El mantenimiento a temperaturas inadecuadas.

Algunos alimentos se han visto involucrados con frecuencia en brotes de enfermedades de transmisión alimentaria, como, por ejemplo, el huevo y ovoproductos (EFSA, 2017, 2019). Por ello, en estos casos se ha optado por recomendaciones específicas, como, por ejemplo, sustituir el huevo por ovoproductos pasteurizados en el caso de que el tratamiento térmico no sea suficiente.

En las recomendaciones de cocinado en relación con el tiempo y temperatura se debe tener en cuenta el método de cocinado, ya que, por ejemplo, en el caso de preparación con horno microondas la distribución de temperatura puede ser no homogénea, lo que implica la necesidad de cocinar a temperaturas más elevadas o durante tiempos más largos (Szymczak y Dabrowski, 2015) (FDA, 2017). Mención especial merece el cocinado lento, conocido como *slow cooking* en el que el cocinado se puede prolongar durante varias horas (Burnham et al., 2006), en condiciones en las que pueden no existir suficientes datos científicos de inactivación microbiana.

Otro aspecto de gran importancia en seguridad alimentaria es la temperatura de conservación en caliente de comidas preparadas. Puesto que el cocinado no inactiva bacterias patógenas esporuladas, una temperatura de conservación inadecuada puede conllevar la multiplicación microbiana y en consecuencia suponer un factor de riesgo. La mayoría de los microorganismos patógenos pueden crecer en alimentos a temperaturas comprendidas entre 5 y 60 °C, rango de temperaturas que se considera potencialmente de riesgo (Kim et al., 2013).

La conservación de comidas preparadas y recalentamiento antes de su consumo deben recibir especial atención, siendo necesario refrigerar lo antes posible, mantener en refrigeración a tem-

peraturas adecuadas y recalentar a una temperatura suficiente para inactivar bacterias patógenas (Dudeja y Singh, 2017) (FSA, 2020). La refrigeración adecuada es esencial para prevenir el crecimiento de bacterias esporuladas que han sobrevivido al tratamiento térmico inicial (Poumeyrol et al., 2014).

Los alimentos cocinados se deben o bien consumir inmediatamente, o mantener un corto periodo de tiempo a temperaturas adecuadas, o enfriar rápidamente para evitar el crecimiento de *Clostridium* spp. y otras bacterias, y recalentar de forma adecuada antes de su consumo (EFSA, 2005) (FDA, 2017) (FSA, 2020).

El presente informe pretende dar respuesta a la solicitud de la opinión del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) respecto a los siguientes aspectos, en relación con los riesgos biológicos:

- Combinaciones tiempo-temperatura adecuadas para el cocinado seguro de los alimentos, así como la temperatura mínima para que no sea necesario sustituir el huevo por ovoproductos pasteurizados en la preparación de alimentos que lo contengan.
- Si es seguro servir huevos que no hayan alcanzado la temperatura de 75 °C en el centro de los mismos, en distintas preparaciones como huevo frito o tortillas poco cuajadas, siempre que se sirvan para su consumo en un tiempo después de su cocinado a determinar por el Comité Científico.
- Temperatura adecuada para el mantenimiento en caliente de las comidas preparadas.
- Combinaciones tiempo-temperatura adecuadas para el recalentamiento de sobras de comida.

2. Recomendaciones de combinaciones tiempo-temperatura de cocinado existentes

Las recomendaciones de tiempo-temperatura de cocinado de los alimentos difieren entre distintos países e instituciones, así como en las publicaciones científicas. En algunos casos, las recomendaciones difieren dependiendo del tipo de alimento. Por otro lado, diversos estudios han puesto de manifiesto el incumplimiento de las recomendaciones en cuanto a temperatura de cocinado, siendo necesario establecer programas de formación en seguridad alimentaria que incidan sobre las correctas prácticas de cocinado de los alimentos (Brown et al., 2013).

En la legislación española no se establecen requisitos de temperatura de cocinado, pero sí de conservación en caliente y en refrigeración. En este sentido, el Real Decreto 3484/2000 establece que la temperatura de conservación en caliente de las comidas preparadas debe ser igual o superior a 65 °C (BOE, 2001). El citado Real Decreto también hace referencia a la temperatura de conservación, estableciendo una temperatura inferior a 8 °C en las comidas refrigeradas con un periodo de duración inferior a 24 horas, y de 4 °C si la duración es superior.

Para reducir los brotes de salmonelosis se han adoptado distintas medidas en la elaboración, preparación y conservación de alimentos. En relación con la preparación y conservación de la mayonesa de elaboración propia y otros alimentos de consumo inmediato en los que figure el huevo como ingrediente, el Real Decreto 1254/1991 establece que en la elaboración de alimentos que no sigan un tratamiento térmico no inferior a 75 °C en el centro de los mismos, se sustituirá el huevo por ovoproductos pasteurizados, debiendo conservarse en ambos casos a una temperatura de 8 °C

hasta su consumo durante un máximo de 24 horas. Además, para la mayonesa se establece un pH inferior a 4,2 en producto terminado (BOE, 1991).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó en 1989 una guía para la manipulación de alimentos en establecimientos de restauración colectiva (OMS, 1989). En dicha guía se recomienda cocinar la carne, el pollo y moluscos y crustáceos a una temperatura de 70 °C en el centro del producto. En relación con la temperatura de conservación dicha guía recomienda conservar los platos preparados de carne a temperaturas superiores a 60 °C o inferiores a 10 °C. En cuanto al recalentamiento, se recomienda alcanzar una temperatura interna de 70 °C y mantener dicha temperatura durante al menos 2 minutos.

El *Codex Alimentarius* establece que el tiempo y la temperatura del cocinado deben ser suficientes para asegurar la destrucción de los microorganismos patógenos no productores de esporas. Para carne de vacuno, establece una temperatura mínima de 63 °C, que en el caso de aves se eleva a 74 °C. Estos tratamientos térmicos no son suficientes para la inactivación de patógenos esporulados como *Bacillus cereus* o *Clostridium perfringens*, por lo que se deben adoptar las medidas necesarias durante la conservación para limitar el crecimiento de dichos patógenos. La temperatura mínima de mantenimiento en caliente se fija en 60 °C. Respecto al recalentamiento, establece una temperatura de 75 °C en el centro del alimento o equivalente (Codex Alimentarius, 1993).

En Estados Unidos, la *Food and Drug Administration* (FDA) establece recomendaciones de combinaciones tiempo-temperatura para el cocinado de alimentos en el *Food Code* (FDA, 2017). El *Food Code* de la FDA sienta las bases de la normativa a nivel local que regula los requisitos que deben cumplir los establecimientos de preparación de comidas. La guía incluye recomendaciones para asegurar que los alimentos se cocinan a combinaciones de temperatura y tiempo suficientes para inactivar microorganismos patógenos. En función del alimento, las temperaturas recomendadas varían en general entre 60 y 74 °C. En el caso de asados de carne, se incluyen también temperaturas inferiores a 60 °C (55 °C) durante tiempos prolongados (89 minutos). Hay que destacar que dicha temperatura se debe alcanzar en todas las partes del alimento, por lo que se indica como temperatura interna. En el caso de la carne de pollo el *Food Code* establece que debe ser cocinado a temperaturas de al menos 74 °C durante 1 segundo y que la temperatura final de cocinado debe medirse con un termómetro para asegurar que se alcanza dicha temperatura. En la Tabla 1 se resumen las recomendaciones recogidas en el *Food Code* para distintos alimentos. También en el *Food Code* se establecen combinaciones de tiempo-temperatura para el recalentamiento de comidas preparadas, que se incluyen en la Tabla 2.

Tabla 1. Temperaturas-tiempos de cocinado en distintos alimentos recomendadas por la *Food and Drug Administration*

Alimento	Temperatura mínima	Tiempo mínimo a la temperatura especificada
Carne	70 °C	1 segundo
	68 °C	17 segundos
	66 °C	1 minuto
	63 °C	3 minutos
Pollo	74 °C	1 segundo
Huevos preparados para servicio inmediato	63 °C	15 segundos
Huevos no preparados para servicio inmediato	70 °C	1 segundo
	68 °C	17 segundos
	66 °C	1 minuto
	63 °C	3 minutos
Pescado	68 °C	17 segundos
Rellenos de carne, pescado, pollo, pasta	74 °C	1 segundo
Asados de carne	55 °C	89 minutos
	60 °C	12 minutos
	65 °C	85 segundos
	69 °C	14 segundos
Alimentos cocinados en microondas	74 °C	2 minutos

Fuente: (FDA, 2017).

Tabla 2. Temperaturas-tiempos para el recalentamiento de alimentos cocinados según la *Food and Drug Administration*

Alimento	Temperatura mínima	Tiempo mínimo a la temperatura especificada
Alimentos cocinados, refrigerados y recalentados	74 °C	15 segundos
Alimentos recalentados en microondas	74 °C	2 minutos

Fuente: (FDA, 2017).

En Reino Unido, la FSA (*Food Standard Agency*) establece una temperatura de cocinado de 70 °C durante al menos 2 minutos o tratamiento térmico equivalente (FSA, 2020). Las combinaciones tiempo-temperatura que establece la FSA son las siguientes:

- 60 °C durante 45 minutos.
- 65 °C durante 10 minutos.
- 70 °C durante 2 minutos.
- 75 °C durante 30 segundos.
- 80 °C durante 6 segundos.

En relación a las recomendaciones de temperatura de conservación de las comidas preparadas, la FSA establece una temperatura de 63 °C (FSA, 2020).

En Irlanda, la FSAI (*Food Safety Authority of Ireland*) establece una temperatura de cocinado en el interior del alimento de 75 °C durante 1 segundo o 70 °C durante 2 minutos, aunque establece excepciones en casos concretos (FSAI, 2018). En relación a las recomendaciones de temperatura de conservación de las comidas preparadas la FSA establece una temperatura mayor de 63 °C (FSAI, 2020). Respecto al recalentamiento establece una temperatura igual o superior a 70 °C en el centro del producto (FSAI, 2018, 2020).

3. Cálculos de los binomios tiempo-temperatura para la inactivación de microorganismos patógenos de interés en seguridad alimentaria

En general, los binomios tiempo-temperatura se establecen en base a datos bibliográficos que relacionan valores D equivalentes a distintas temperaturas, a partir de valores z para las condiciones indicadas (Ecuación 1), según las recomendaciones de las autoridades competentes. En base a estos datos, se determinan los tiempos que debe estar el alimento a cada una de las temperaturas indicadas para garantizar su seguridad. Estas recomendaciones asumen que los alimentos van a estar a esa temperatura de forma constante, o bien que van a permanecer esos tiempos a temperaturas iguales o superiores a la recomendada. En caso de que se encuentren a una temperatura superior, el exceso de calentamiento se considera un margen de seguridad adicional que garantizaría la inactivación del agente patógeno de referencia considerado (Stumbo, 1973).

$$\text{Ecuación 1: } \log D(T) = \log D_{ref} - \frac{T - T_{ref}}{z}$$

donde $D(T)$ es el valor D (tiempo de reducción decimal) a la temperatura estudiada; D_{ref} es el valor D a la temperatura de referencia; T es la temperatura estudiada; T_{ref} es la temperatura de referencia y z es el incremento de temperatura (°C) necesario para causar una reducción decimal en el valor $D(T)$.

No obstante, existen recomendaciones que no se basan en dichas relaciones, pudiendo estar establecidas a partir de valores empíricos. Es conveniente que este tipo de recomendaciones se vayan sustituyendo por diferentes combinaciones de tiempo-temperatura que se puedan considerar equivalentes, lo que permitiría a las empresas una mayor flexibilidad en la producción de alimentos, en base a las instalaciones disponibles o a criterios de calidad. Un ejemplo sería la exigencia de alcanzar 90 °C durante al menos 90 segundos en agua hirviendo para eliminar microorganismos patógenos en moluscos bivalvos vivos no depurados que proceden de zonas de producción B y C, con una mayor contaminación (UE, 2004). Los peligros microbiológicos más importantes asociados a estos productos identificados han sido Norovirus y el virus de la Hepatitis A (Messens et al., 2017). La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha publicado un modelo predictivo basado en datos de inactivación isotérmicos de virus de la Hepatitis A en matrices de moluscos, que permite establecer procesos alternativos equivalentes a 90 °C/90 segundos. Si se establece por parte de los gestores de riesgo un nivel de protección adecuado (*appropriate level of protection*, ALOP), se podría traducir en un criterio de actuación (*performance criterion*, PC) y un criterio de proceso (*process*

criterion, PrC). Esto permitiría establecer unos criterios de proceso basados en un valor F (tiempo equivalente de procesado de un tratamiento isotérmico hipotético a una temperatura de referencia), que sería más adecuado que la combinación tiempo-temperatura actualmente en vigor (EFSA, 2015).

Actualmente existen herramientas matemáticas que permiten integrar la letalidad alcanzada con perfiles de temperatura dinámicos (no isotérmicos), lo que puede llevar a sustituir la rigidez asociada a combinaciones tiempo-temperatura preestablecidas, tales como ComBase (Baranyi y Tamplin, 2004) o Bioinactivation FE (Garre et al., 2018). No obstante, el uso de estas herramientas, si bien cuentan con aplicaciones de fácil uso, requiere una formación técnica que puede limitar su aplicación.

El establecimiento de binomios tiempo-temperatura basados en criterios científicos y que permitan una amplia selección de combinaciones por parte de los operadores puede permitir flexibilizar y facilitar el cumplimiento de las recomendaciones en una gran variedad de casos (distintos equipos, distintas condiciones de procesado para cada tipo de alimento, hábitos culturales diferentes, etc.).

4. Efecto de las combinaciones tiempo-temperatura en el cocinado de alimentos

Dado que existen diferencias importantes en composición y flora microbiana presente en distintos alimentos, así como pautas de cocinado diferente, parece conveniente abordar en primer lugar los microorganismos patógenos que con mayor frecuencia se asocian a dichos alimentos, la inactivación por el calor de los patógenos más relevantes y toxinas, así como el cálculo del tratamiento térmico necesario.

4.1 Carne

La FAO (*Food and Agriculture Organization*) define como carne a aquella de animales utilizados para consumo humano, principalmente la que se deriva de una serie de especies animales (por ejemplo, vacuno, pequeños rumiantes como oveja, o cabra, aves, cerdo y otras especies como camello, ciervo, búfalo o caballo). En el Reglamento (CE) N° 853/2004, se define la carne como las partes comestibles de los animales domésticos de las especies bovina, porcina, ovina y caprina, así como los solípedos domésticos, las aves de cría, los lagomorfos, la caza silvestre y la caza de cría (UE, 2004).

La carne tiene el potencial de transportar microorganismos patógenos a los consumidores, clásicamente asociados a agentes zoonóticos. Estos microorganismos patógenos tienen como reservorio animales sanos, en los cuales no producen condiciones ni alteraciones patológicas. Sin embargo, pueden contaminar la cadena alimentaria en la producción de carne, por ejemplo, durante el sacrificio. En este sentido es de vital importancia el estricto mantenimiento de buenas prácticas de higiene durante el sacrificio, ya que los peligros microbiológicos no son eliminados durante el mismo.

Entre los microorganismos de origen bacteriano que pueden causar enfermedades transmitidas por los alimentos y que pueden constituir un riesgo en algunos productos cárnicos, se incluyen *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* enterohemorrágica (por ejemplo, serogrupo O157), algunos serovares de *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* y *Bacillus cereus*. Asimismo, algunos virus entéricos tienen capacidad zoonótica demostrada como es el caso del virus de la Hepatitis E y su transmisión

por carne de cerdo o productos derivados, o los rotavirus (tipo A) y su transmisión por carne de vacuno o productos derivados. Además, se han descrito clásicamente diferentes tipos de parásitos asociados al consumo de carne, como, por ejemplo, diferentes especies de *Echinococcus* (*granulosus* o *multilocularis*), diversas especies del género *Taenia* (principalmente en su forma de cisticercos: *Taenia saginata* en vacuno o *Taenia solium* en cerdo), nematodos como *Trichinella spiralis*, y más recientemente, y con un carácter emergente, *Toxoplasma gondii*.

Desde un punto de vista de control mediante un procesado culinario de calentamiento, las especies que pueden tener más interés son *Salmonella* y *L. monocytogenes*. *L. monocytogenes* es la bacteria no esporulada más resistente al tratamiento térmico. Los tratamientos térmicos que inactivan *L. monocytogenes* inactivan también otras bacterias patógenas como *Salmonella*. En este sentido, se ha propuesto a *L. monocytogenes* como microorganismo modelo para la evaluación de la inactivación térmica (ILSI, 2012). *L. monocytogenes* puede existir como un microorganismo saprófito en el medio ambiente, y tradicionalmente se han relacionado brotes de listeriosis en el ganado vacuno y ovino con la alimentación de ensilaje de baja calidad. Asimismo, se ha descrito la presencia de *L. monocytogenes* en heces de ganado aparentemente sano en muchos países, tanto en la granja como en el momento del sacrificio. *L. monocytogenes* puede contaminar las canales a través de la piel, el vellón o heces contaminadas y de las superficies de la zona de sacrificio y faenado. Otra bacteria a controlar en carne cocinada es *C. perfringens*. Esta bacteria esporulada suele aislarse de una manera frecuente en la superficie de las canales de carne de vacuno, ovino y porcino en el momento del sacrificio, aunque generalmente en recuentos bajos (<200 ufc/100 cm²) y, principalmente, como células vegetativas (ICMSF, 2005). La contaminación de la carne proviene de la materia fecal y del suelo y el polvo de la piel del animal. La intoxicación alimentaria se debe a la supervivencia de las esporas en las carnes cocinadas y al crecimiento considerable (superior a 10⁵ ufc/g) durante un enfriamiento inadecuado del producto cocinado en condiciones anaeróbicas (manteniendo algunas horas entre 15 y 50 °C) y posterior consumo sin tratamiento culinario de calentamiento.

Salmonella spp. es levemente resistente a las altas temperaturas. Algunos serovares son más resistentes que otros. Por ejemplo, *S. Senftenberg* es inusualmente resistente al calor, de 10 a 20 veces más resistente (Doyle y Cliver, 1990). Otros factores que influyen en la resistencia al calor incluyen la composición, la actividad del agua y el pH del alimento en el que se encuentra *Salmonella*. Este microorganismo es más resistente al calor seco que al húmedo y muestra una mayor susceptibilidad al calor a pH extremos (Schuman y Sheldon, 1997). En general, los valores D de *Salmonella* a 60 °C oscilan entre 5-6 minutos en pollo, 5-13 minutos en pavo y 3-5 minutos en carne de vacuno. En la mayoría de los estudios, el valor z de *Salmonella* oscila entre 5,0 y 6,5 °C. Asimismo, los valores D para carne picada de vacuno a 51,6; 57,2 y 62,7 °C son 61-62; 3,8-4,2 y 0,6-0,7 minutos, respectivamente (Goodfellow y Brown, 1978), y con un valor z de 6,2 °C (Orta-Ramirez et al., 1997) (Murphy et al., 2000). Juneja et al. (2001) realizaron estudios de tiempo de inactivación térmica en carne de pollo, pavo y vacuno utilizando un cóctel de *Salmonella* que incluía ocho cepas representativas y apropiadas de acuerdo con las recomendaciones del *Food Safety and Inspection Service* del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Juneja et al., 2001), los valores D calculados en la carne picada fueron menores y los valores de z mayores que los anteriormente descritos, mientras que los valores de D en pollos fueron inferiores.

La inactivación térmica de *L. monocytogenes* ha sido estudiada extensamente resultando en un rango amplio de valores D. La dinámica de inactivación puede ser influenciada por diversos factores, incluyendo el tipo de cepa, el estado fisiológico de las células microbianas y las condiciones de calentamiento y recuperación (Smelt y Brul, 2014). Valores D promedio para *L. monocytogenes* a 60 °C en caldo o soluciones tampón (pH 7-7,5; actividad de agua, a_w , 0,99-1,00) oscilan en torno a 1,32 minutos (Wang et al., 2015). Sin embargo, los tiempos de tratamiento térmico necesarios son superiores en productos cárnicos. Los valores D para *L. monocytogenes* Scott A a 60, 65 y 70 °C en una mezcla de carne (20 % de carne picada, 80 % de agua) son 2,54; 0,75 y 0,23 minutos, respectivamente (Boyle et al., 1990). De una manera similar, los valores D para *L. monocytogenes* Scott A a 51,7; 57,2 y 62,8 °C en carne picada de vacuno magra (2,0 % de grasa) y rica en grasa (30,5 %) fueron 56,1; 34,5 y 2,4 minutos en la carne magra y 4,6; 0,5 y 1,1 minutos en la carne con alto contenido de grasa (Fain et al., 1991), mientras que los valores z fueron de 5,4 y 7,3 °C en carne picada magra y grasa, respectivamente. Asimismo, Doherty et al. (1998) reportaron valores D de 3,14 y 0,33 minutos a 55 y 60 °C, respectivamente, para *L. monocytogenes* en carne picada calentada en bolsas al vacío. Se ha asumido en la industria alimentaria que la supervivencia de los microorganismos a la inactivación térmica sigue una cinética de primer orden. Sin embargo, existe una evidencia creciente para apoyar que no siempre sigue una cinética tradicional de primer orden, especialmente durante el tratamiento térmico suave (Augustin et al., 1998) (Valdramidis et al., 2006). Existe un consenso en que los valores D deben utilizarse con cuidado, ya que las curvas de supervivencia isotérmicas no son realmente log-lineales (Peleg, 2006). Por ello, otra alternativa interesante es utilizar los valores txD, que describen el tiempo t requerido para x reducciones en unidades logarítmicas (Valdramidis et al., 2005). Empleando este parámetro, se tienen en cuenta las desviaciones en la cinética de primer orden al estimar la efectividad de un tratamiento térmico en lugar de excluir los hombros y las colas (Heldman y Newsome, 2003) (Valdramidis et al., 2005). En este sentido, el tiempo necesario para alcanzar 6 reducciones en unidades logarítmicas (txD) para *L. monocytogenes* a 60 °C en caldo de cultivo es de 5,5 minutos (Valdramidis et al., 2005).

Aunque la mayoría de las carnes y productos cárnicos se procesan térmicamente completamente antes de su consumo, algunos tipos de carne o productos cárnicos con relativa frecuencia se cocinan ligeramente, dejando la carne cruda en el centro, como, por ejemplo, en el caso de las hamburguesas y productos similares. En dichos productos es muy importante tener precauciones especiales.

El procesado térmico de los alimentos a nivel industrial puede destruir efectivamente todas las formas vegetativas de patógenos bacterianos, virus y parásitos. Tradicionalmente, las recomendaciones para la industria alimentaria ha sido el tratamiento de la carne de aves de corral y productos derivados a una temperatura interna de 68,3 y 71,1 °C, respectivamente, mientras que la temperatura es de hasta 63 °C para carne de vacuno y productos derivados (Orta-Ramirez y Smith, 2002). Sin embargo, un brote de *E. coli* O157:H7 en varios estados del pacífico en Estados Unidos, hizo que se modificaran dichas recomendaciones en carne de vacuno a protocolos de tiempo/temperatura de: 66,1 °C/41 segundos; 66,7 °C/32 segundos; 67,2 °C/26 segundos; 67,8 °C/20 segundos; 68,3 °C/16 segundos; 68,9 °C/13 segundos y >69,4 °C/10 segundos y luego enfriar a una temperatura interna máxima de 4 °C en 2 horas (USDA-FSIS, 1993). Hay que señalar que este tipo de tratamiento no es

efectivo para la eliminación de las esporas bacterianas, por lo que después del tratamiento térmico se requieren requisitos específicos de enfriamiento. Por ello, para las carnes asadas, se requiere que se enfríen rápida y continuamente de modo que el tiempo que se mantengan a temperaturas entre 48,9 y 12,8 °C no supere un total de 6 horas, con enfriamiento continuo hasta que se alcance una temperatura de 4,4 °C.

En lo que respecta a los consumidores, tradicionalmente se ha recomendado cocinar hamburguesas hasta que el color interno sea marrón (USDA-FSIS, 1985). El cambio de color de la carne durante el calentamiento ocurre a temperaturas cercanas a los 60 °C, dependiendo de la duración del calentamiento. Sin embargo, el centro de un filete de 15 mm de grosor, asado a la parrilla, apenas alcanza 40 °C. La temperatura en el rango de 40 a 60 °C, especialmente si se aplica durante cortos periodos de tiempo, no eliminará ni siquiera las formas vegetativas bacterianas relativamente sensibles al calor. Por tanto, muchos microorganismos pueden sobrevivir, algunos de los cuales con capacidad patogénica como *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., cepas patógenas de *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* y parásitos. Por lo tanto, agencias gubernamentales como el USDA-FSIS (*US Department of Agriculture-Food Safety Inspection Service*) ha desaconsejado las mediciones de color, recomendando en cambio el uso de un termómetro al cocinar hamburguesas (USDA-FSIS, 1997), y extendiendo las recomendaciones a cocinar hamburguesas a una temperatura mínima de 71 °C (Taylor, 1992). En 2020, el USDA-FSIS ha establecido una serie de recomendaciones mínimas para diferentes tipos de productos cárnicos, realizando algunos cambios importantes en las temperaturas de cocción recomendadas para las carnes y productos cárnicos (USDA-FSIS, 2020). Por ejemplo, se ha recomendado reducir la temperatura de calentamiento para cortes enteros de cerdo (filetes y chuletas de cerdo o los asados) de 71,1 a 62,8 °C, medida con un termómetro para alimentos antes de retirar la carne de la fuente de calor con la adición de un tiempo de reposo de 3 minutos antes de cortarla o consumirla. En este sentido, se define como “tiempo de reposo” la cantidad de tiempo que el producto permanece a la temperatura final, después de haber sido retirado de una parrilla, horno u otra fuente de calor. El USDA-FSIS ha establecido que es tan seguro cocinar cortes de cerdo a 62,8 °C con un tiempo de reposo de 3 minutos, como cocinarlos a 71,1 °C, temperatura recomendada anteriormente, sin tiempo de reposo. Para las carnes de vacuno y cordero la temperatura segura permanece sin cambios a 62,8 °C, pero se ha agregado un tiempo de reposo de 3 minutos como parte de sus recomendaciones de calentamiento. En este aspecto, se ha considerado recomendable tener una única combinación de tiempo y temperatura para toda la carne, ya que ayudará a los consumidores a recordar la temperatura de cocinado para que la carne sea segura para su consumo. En la Tabla 3 se recogen las recomendaciones de cocinado de carne y productos derivados establecidas por USDA-FSIS (USDA-FSIS, 2020).

Tabla 3. Recomendaciones de temperatura establecidas por el USDA-FSIS (2020)	
Producto	Temperatura interna mínima y tiempo de reposo
Carne de ternera, cerdo, y cordero	
Filetes, chuletas, asados	62,8 °C y dejar reposar durante al menos 3 minutos
Carne picada	71,1 °C
Jamón, fresco o ahumado (sin cocer)	62,8 °C y dejar reposar durante al menos 3 minutos
Jamón completamente cocido (para recalentar)	Volver a calentar los jamones cocidos envasados a 73,9 °C
Carne de aves de corral	
Pechugas, ave entera, patas, muslos, alas, menudencias y relleno	73,9 °C
Carne picada de ave	73,9 °C

En definitiva, es recomendable el control de calentamiento de la carne en el hogar no mediante la visualización de la apariencia y cambio de coloración, sino mediante el control de la temperatura. En este sentido, es de especial relevancia el control de la misma en productos en la que la estructura muscular se ha destruido y se ha producido masas cárnicas, como puede ser el caso de carne picada y productos cárnicos tipo hamburguesa.

Uno de los aspectos más importantes que hay que tener en cuenta en cuanto a las consideraciones de seguridad en el procesado de los alimentos, y, en particular, en el calentamiento de los mismos y más en el hogar, es que los resultados y parámetros obtenidos en experimentos en el laboratorio pueden variar con respecto a aquellos observados en un tratamiento culinario real, siendo necesario muchas veces tratamientos más elevados en condiciones reales (Kenney y Beuchat, 2004). Wang et al. (2015) demostraron que los datos de inactivación térmica basados en experimentos de laboratorio realizados en caldos muestran una clara sobreestimación del grado de inactivación respecto a lo que se puede esperar en los alimentos cocinados en condiciones reales, lo cual puede suponer un escenario de alto riesgo. Por lo tanto, es importante validar los modelos cuidadosamente y tener en cuenta las diferencias que podrían ocurrir debido a la composición, textura y características fisicoquímicas de la matriz alimentaria y la microbiota autóctona competidora descrita (Pin et al., 1999) (Miconnet et al., 2005). Asimismo, existen diferencias, a veces considerables, entre los resultados presentados por diferentes grupos de investigación. Estas diferencias en los valores D se deben, principalmente, a diferencias en la composición de la carne y al uso de diferentes métodos de recuperación empleados para el recuento de *Salmonella*. Además, las diferencias en el tamaño y el volumen de las muestras de carne inoculadas pueden afectar al cálculo de los parámetros de inactivación térmica.

Siguiendo recomendaciones de diferentes agencias gubernamentales, en el cocinado de carne es recomendable que en el centro del producto se alcance una temperatura de 70 °C durante 1 segundo (o tratamiento equivalente). En carne de aves se recomienda que dicha temperatura sea de 74 °C durante al menos 1 segundo (o tratamiento equivalente). Alternativamente, si se considera el tiempo de reposo, en el caso de carnes de vacuno y cerdo (filetes, chuletas, etc.) es recomendable

alcanzar una temperatura de 63 °C en el centro del producto durante 1 segundo, con una temperatura de reposo de 3 minutos, mientras que para las carnes de ave de corral esa temperatura debe elevarse a 74 °C. Las recomendaciones se realizan en base a la temperatura alcanzada en el centro del producto o parte interna por ser el punto más frío del producto, ya que se debe garantizar que todo el producto debe alcanzar la temperatura recomendada.

4.2 Productos de la pesca

Los productos de la pesca pueden estar involucrados en enfermedades de transmisión alimentaria ocasionados por bacterias, virus y parásitos (Safaeian y Khanzadi, 2018).

Las bacterias patógenas transmitidas por los productos de la pesca se dividen en dos grandes grupos: las bacterias autóctonas, es decir, aquellas presentes de forma natural en el medio acuático (*C. botulinum*, especies patógenas del género *Vibrio*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* y *L. monocytogenes*), y las bacterias no autóctonas, generalmente presentes como consecuencia de la contaminación por aporte de aguas residuales exógenas al pescado y a los productos de la pesca, o bien por la manipulación incorrecta en etapas posteriores, es decir, manipuladores o incluso el consumidor final (*Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* o *S. aureus*) (Nilsson et al., 2002).

En general, las bacterias patógenas presentes en pescado, moluscos y crustáceos, no suelen constituir un riesgo importante para la salud porque están presentes en unos niveles no muy elevados y el cocinado los reduce a niveles aceptables (la excepción se produce cuando se genera una acumulación mayor de microorganismos como, por ejemplo, *Vibrio* spp. en los moluscos bivalvos, como almejas, ostras o mejillones, que a menudo se consumen crudos). La refrigeración impide o retarda la multiplicación de los patógenos, mientras que la cocción los inactiva y elimina. Si el procesado que sufre el pescado es suave, los agentes patógenos pueden sobrevivir y estar presentes en el producto final. La moda actual del consumo de pescado crudo o de productos poco cocinados puede facilitar que estos microorganismos se conviertan en habituales en la lista de patógenos transmitidos por los alimentos (Rosnes et al., 2011).

En los estudios llevados a cabo sobre *L. monocytogenes* en pescado fresco se han señalado prevalencias del 10 % en España (Herrera et al., 2006), 21,6 % en Polonia (Wieczorek y Osek, 2017), 2,5 % en China (Li et al., 2019a). Respecto a *L. monocytogenes* en crustáceos y moluscos, se han señalado prevalencias del 2,0 y 2,3 %, respectivamente (Li et al., 2019a). En general, en los estudios en los que se han analizado los niveles de *L. monocytogenes* en pescado fresco se ha observado que estaban por debajo de 2 log ufc/g (Jemmi et al., 2002) (Wieczorek y Osek, 2017), si bien algunos autores han encontrado niveles superiores a 2 log ufc/g en algunas de las muestras de pescado analizadas (McLauchlin y Nichols, 1994).

Se han realizado varios estudios sobre *L. monocytogenes* en pescado. La resistencia al calor de *L. monocytogenes* depende del contenido en grasa y de la actividad de agua. En este sentido Ben y Huss (1993) señalan un valor D_{60} para *L. monocytogenes* más elevado en salmón (4,5 minutos) que en bacalao (1,8 minutos). Estos valores indican que el contenido en grasa puede proteger a esta bacteria frente al calor. También el grosor de las piezas de pescado afecta al tiempo necesario de cocinado.

En el caso del pescado es relevante *C. botulinum* no proteolítico. Aunque, en general, la incidencia de *C. botulinum* en pescado fresco es baja, en algunas áreas la incidencia puede ser elevada, siendo *C. botulinum* tipo E el más frecuentemente aislado (ICMSF, 1998) (Gram y Huss, 2000). Los valores $D_{82,2}$ señalados para esta bacteria oscilan entre 0,4-2,4 minutos hasta 231 minutos (Lund y Peck, 2000). Dado que las esporas de *C. botulinum* no proteolítico no son inactivadas con un tratamiento de pasteurización, es esencial que las condiciones de conservación del pescado cocinado sean las adecuadas. *C. botulinum* no proteolítico puede crecer y producir toxinas a temperaturas de 3 °C (ICMSF, 1996). Distintos estudios señalan que el crecimiento de esta bacteria es lento a 4 °C, pero a 8 °C la tasa de crecimiento aumenta casi cinco veces (Graham y Lund, 1993). Un aumento de temperatura de 2-4 °C puede resultar en el crecimiento y producción de toxina. En la Tabla 4 se incluyen datos sobre la producción de toxinas a distintas temperaturas en pescado inoculado con *C. botulinum* tipo E.

Tabla 4. Temperatura-tiempo para la producción de toxinas en pescado inoculado con esporas de *Clostridium botulinum* tipo E

Pescado	Inóculo/g	Temperatura (°C)	Tiempo para la producción de toxinas (días)	Referencia
Bacalao	10 ²	10	6	Taylor et al. (1990)
Salmón	10 ²	12	6	García et al. (1987)
Salmón	10 ²	8	9	García et al. (1987)
Salmón	10 ²	4	21	García et al. (1987)

La transmisión de enfermedades de tipo viral al ser humano por consumo de productos de la pesca se relaciona en especial con el consumo de moluscos crudos. Destacan el virus de la hepatitis A, el virus tipo Norwalk, Norovirus y otros enterovirus. El tratamiento térmico es el único modo de eliminarlos. Se aconseja someter a estos alimentos de más riesgo a un calentamiento de 90 °C durante 90 segundos en agua hirviendo (UE, 2004). Algunos autores incluso hablan de alargar este tiempo hasta 3 minutos antes de consumirlos (Flannery et al., 2014).

Los parásitos de peces capaces de producir problemas sanitarios en las personas son los helmintos pertenecientes a la clase trematoda, cestoda y nematoda, como *Anisakis*. El tratamiento térmico para su inactivación requiere que el pescado alcance una temperatura interior mínima de 60 °C durante un tiempo de 1 minuto, aunque dependerá del tipo de cocinado y de tamaño de las piezas. Así, se ha estimado que un filete de 3 cm de grosor debería ser cocinado a esta temperatura al menos 10 minutos (EFSA, 2010).

Es bien sabido que uno de los beneficios más importantes de cocinar productos de la pesca es mejorar la calidad higiénica y la seguridad mediante la inactivación de microorganismos patógenos (Talab, 2014). Una adecuada limpieza, refrigeración (temperaturas por debajo de los 4 °C) y cocinado evita los problemas de toxinfeción. El adecuado cocinado del pescado disminuye el riesgo de que permanezcan los posibles patógenos. Alcanzar la denominada “temperatura de seguridad” (70 °C), aumenta la posibilidad de que se eliminen los microorganismos del interior del alimento, pero hay

que tener en cuenta que no sucede así para todos los pescados, moluscos y crustáceos, como, por ejemplo, ocurre con los mejillones (Flannery et al., 2014). Es importante tener en cuenta que la forma de cocción influirá en esta destrucción. Si se cocina por fritura, al horno, al vapor, o al baño maría, en todos los casos se alcanzan temperaturas elevadas y, por tanto, la eliminación de patógenos es alta. Si el pescado se cocina por hervido debe sumergirse por completo en el agua, y si se cocina al microondas, es importante comprobar que se ha cocinado toda la pieza de forma homogénea.

Se han realizado diversos estudios sobre el efecto de diferentes métodos de cocción (freír, asar a la parrilla y hervir) en el recuento total de microorganismos presentes en diversos pescados (El-Sheriff et al., 2011) (Talab, 2014) (El-Lahamy et al., 2019). Los resultados de estos estudios, muestran que todos los métodos de cocción dan como resultado una fuerte reducción de la carga microbiana, siendo, como es de esperar, la tasa de reducción más alta en las muestras fritas en comparación con las muestras asadas y hervidas.

Algunos estudios indican que la temperatura interna mínima para la cocción de productos de la pesca debe ser de 63 °C durante 15 segundos. En el caso de que se hable de pescados rellenos, estos se deben cocinar hasta alcanzar como mínimo una temperatura de 74 °C durante 15 segundos, y si el pescado es molido, cortado o picado se debe cocinar a 68 °C durante 15 segundos. La FDA recomienda cocinar el pescado a temperaturas de 68 °C durante 17 segundos (FDA, 2017), dicho tratamiento es suficiente para inactivar *Anisakis* (USDA-FDA, 2020). Si el pescado es cocinado en microondas, debe estar a una temperatura interna mínima de cocción de 74 °C (Rabiela, 2015).

Para el caso de moluscos, las recomendaciones son las de aplicar temperaturas superiores a 70 °C, ya que es una temperatura insuficiente para inactivar completamente los virus y, por tanto, puede suponer un riesgo para los consumidores. En estos casos se aconseja cocinar los moluscos con agua hirviendo (>90 °C) durante un mínimo de 90 segundos para inactivar posibles virus infecciosos.

Teniendo en cuenta la información científica disponible, se recomienda el cocinado de pescado a una temperatura de 68 °C durante 15 segundos, temperatura medida en el centro del pescado (o tratamiento equivalente). En el caso de pescados rellenos, la temperatura a alcanzar en el centro del producto es de 74 °C durante 15 segundos (o tratamiento equivalente). En el caso de moluscos crudos, se recomienda cocinar a 90 °C durante 90 segundos en agua hirviendo.

4.3 Huevos y ovoproductos

Los huevos y los ovoproductos son susceptibles a la contaminación por *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* y *Campylobacter* spp., aunque lo más frecuente es que se vean involucrados en brotes causados por *S. Enteritidis* (EFSA, 2014). La salmonelosis se ha asociado tradicionalmente con el consumo de huevos y representa una de las combinaciones de agente patógeno/alimento de mayor riesgo. La prevalencia de *Salmonella* en huevos es, en la Unión Europea, del 0,1-0,4 %. Aunque la prevalencia es baja, el número de casos de salmonelosis en humanos asociados con huevos todavía es elevado pues, de los casos de salmonelosis notificados, el 45,6 % provienen de huevos y ovoproductos. Esto es así, especialmente, porque los huevos se consumen y se utilizan en muchos platos que con frecuencia no se tratan bien con calor. La salmonelosis es la segunda enfermedad transmitida por alimentos más notificada en la Unión Europea con el 30,7 % de todos

los casos notificados. *S. Enteritidis* es responsable del 49,9 % de todos los casos de salmonelosis, seguida de *S. Typhimurium* (13,0 %) y *S. Infantis* (2,3 %) (EFSA, 2017, 2019).

Los huevos pueden contaminarse con *Salmonella* de diferentes formas. El exterior del huevo puede estar contaminado por heces después de la puesta, o contaminarse internamente con *Salmonella* durante la puesta si el tracto reproductivo está infectado antes del desarrollo del huevo (Humphrey, 1994). Si *Salmonella* está presente en el exterior del huevo, ocasionalmente puede migrar a través de la cáscara porosa hacia el interior, particularmente cuando los huevos son recién puestos o se encuentran en condiciones húmedas (De Buck et al., 2004), pero se cree que esto es inusual en situaciones de la vida real, a diferencia de los estudios de laboratorio. La extensión de la vida útil puede provocar un mayor riesgo, excepto si se realiza bajo condiciones de refrigeración (EFSA, 2014).

El procesamiento térmico sigue siendo uno de los métodos más comunes y eficaces para inactivar la *Salmonella* presente en los huevos. Cualquier bacteria (excepto las esporas bacterianas) puede ser inactivada cocinando los huevos a una temperatura interna de 70 °C durante 2 minutos. Los tratamientos térmicos que se aplican habitualmente en el cocinado son temperaturas de 65 a 68 °C durante 5 a 6 minutos para el huevo entero y la yema de huevo. Los tratamientos son más suaves para la clara de huevo (55-57 °C durante 2-5 minutos) (Baron y Jan, 2011), debido a la mayor sensibilidad al calor de las proteínas de la clara de huevo. Estos tratamientos son adecuados para reducir la flora vegetativa en al menos 6 log ufc en huevos enteros o yema de huevo (Baron et al., 2010). Basándose en ello, diferentes agencias reguladoras han recomendado para el control específico de *Salmonella* que los huevos se cocinen a una temperatura interna de al menos 71 °C requiriendo que tanto la yema como la clara de huevo estén sólidas antes de servir (CDC, 2011) (FDA, 2016). Cuando la temperatura alcanza los 70 °C, la yema de huevo se coagula y la proteína ovomucoide se desnaturaliza, de manera que la clara de huevo adquiere consistencia. Sin embargo, en muchos restaurantes, especialmente en los vinculados a la alta gastronomía, los huevos se cuecen a temperaturas relativamente bajas, en torno a los 60 °C (Vega y Mercadé-Prieto, 2011), con el fin de mantener la clara y la yema blandas o ligeramente modificadas.

Thomas et al. (2006) estimaron que la reducción de *Salmonella* era de media 12 log ufc (desviación estándar 1) en huevos bien hervidos (10 minutos) o revueltos, (alcanzando los 80 °C o fritos por ambos lados durante 1,5-2 minutos) mientras que alcanzaba únicamente 2 log ufc (desviación estándar 0,5) en huevos poco cocinados (hervidos durante 4 minutos, estrellados o al microondas durante 50-90 segundos).

Por lo que respecta a tratamientos térmicos prolongados (al menos 1 hora) a baja temperatura (62-65 °C), con los cuales se pretende conseguir determinadas texturas más fluidas, Machado et al. (2020) demostraron que, a pesar de no cumplir la recomendación del mínimo de 70-75 °C, cuando se procesaron huevos contaminados a 62 °C durante 60 minutos y se investigó la supervivencia de *Salmonella*, los resultados indicaron que la temperatura del centro del huevo alcanzó $61,7 \pm 0,4$ °C después de 30 minutos, inactivando 7,7 log de *Salmonella* spp. Después de 30 minutos de cocción, la yema permaneció líquida y la clara de huevo ligeramente opaca, demostrando que la inactivación de *Salmonella* no estaba relacionada con la solidificación de la clara o yema de huevo.

Recientemente, la FDA (2020b) ha recomendado las siguientes combinaciones tiempo-temperatura para el cocinado de platos que contienen huevo:

- Hasta 74 °C en microondas y después dejarlo cubierto durante 2 minutos.
- A 68 °C durante 17 segundos si no se van a servir inmediatamente.
- A 63 °C durante 15 segundos si se van a servir inmediatamente.

Por otra parte, en el Real Decreto 1254/1991 por el que se dictan normas para la preparación y conservación de la mayonesa de elaboración propia y otros alimentos de consumo inmediato en los que figure el huevo como ingrediente, se establece que en la elaboración de alimentos que no sufran un tratamiento térmico de al menos a 75 °C en el centro de los mismos, se sustituirá el huevo por ovoproductos pasteurizados (BOE, 1991).

Se han llevado a cabo muchos estudios experimentales sobre la resistencia al calor de *S. Enteritidis* (Tabla 5), debido a las preocupaciones sobre la salud y la seguridad alimentaria en el sector del huevo y ovoproductos y, más recientemente, sobre *L. monocytogenes*, ya que se sabe que exhibe una mayor resistencia térmica que *S. Enteritidis*. Sigue siendo difícil comparar los estudios, porque la resistencia al calor depende, entre otros factores, de la cepa, las condiciones de cultivo, el tamaño de la inoculación y el equipo.

Tal y como se observa en la Tabla, en el caso de *S. Enteritidis*, a 50-55 °C, los valores D presentan una amplia variabilidad entre estudios, mientras que a 60 °C los valores están entre 0,17 y 1,1 minutos, y <6 segundos a 65 °C. La termorresistencia de *Salmonella* es menor en clara de huevo, seguida por aquella en huevo líquido y, finalmente, en yema (Figura 1). Sin embargo, la adición de sal hace aumentar la termorresistencia de *S. Enteritidis*, en particular un 10 % de sal conduce en yema a incrementos de D del 19, 49, 51 y 66 % a 53, 55, 57 y 59 °C, respectivamente (Kang et al., 2018). De manera similar, Michalski et al. (2000) encontró incrementos de 66, 255 y 133 %, a 58, 61 y 64 °C, respectivamente, también utilizando un 10 % de sal, valor que puede ser poco habitual en el cocinado, pero que apunta a que es necesario dejar un cierto margen de seguridad.

Tabla 5. Valores D (minutos) para diferentes serovares de <i>Salmonella</i> en huevo y sus componentes				
	Huevo líquido	Yema líquida	Clara líquida	Referencia
<i>Salmonella</i> Enteritidis	D ₅₅ 3,9-6,4 D ₆₀ 0,22-0,44 D ₆₄ 0,22	D ₅₅ 21,0 D ₆₀ 1,1	D ₅₅ 1,5 D ₆₀ 0,2	Humphrey et al. (1990)
	-	D ₆₀ 0,55-0,75 D _{61,1} 0,27-0,35 D _{62,2} 0,21-0,30	-	Palumbo et al. (1995)
	D ₅₆ 7,9 D ₆₀ 0,62 D ₆₄ 0,07	-	-	Gurtler et al. (2013)
	D ₅₃ 3,62 D ₅₅ 1,75 D ₅₇ 0,66 D ₅₉ 0,40	D ₅₃ 5,21 D ₅₅ 2,28 D ₅₇ 1,04 D ₅₉ 0,54	D ₅₁ 2,52 D ₅₃ 1,10 D ₅₅ 0,61 D ₅₇ 0,28	Kang et al. (2018)
	-	D ₅₈ 1,83 D ₆₀ 0,69 D ₆₂ 0,26 D ₆₄ 0,096 D ₆₆ 0,036	-	Jordan et al. (2011)
	D ₅₄ 5,70 D ₅₆ 0,82 D ₅₈ 0,27 D ₆₀ 0,17	-	D ₅₂ 6,12 D ₅₄ 1,51 D ₅₆ 0,42 D ₅₈ 0,19	Jin et al. (2008)
	D ₅₀ 9,3-16,5 D _{52,5} 1,5-3,3 D ₅₅ 1,4-1,6 D _{57,5} 0,5-0,7	-	-	Muriana et al. (1996)
	D ₅₅ 12,39 D ₅₈ 1,5 D ₆₁ 0,20 D ₆₄ 0,04	D ₅₅ 10,36 D ₅₈ 1,49 D ₆₁ 0,27 D ₆₄ 0,09	D ₅₁ 7,66 D ₅₃ 2,76 D ₅₅ 1,23 D ₅₇ 0,47	Michalski et al. (2000)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	D ₅₅ 2,3-4,7 D ₆₀ 0,20-0,26 D ₆₄ 0,15	D ₅₅ 8,0 D ₆₀ 0,8	D ₅₅ 1,0 D ₆₀ 0,3	Humphrey et al. (1990)
	-	D ₆₀ 0,67 D _{61,1} 0,20 D _{62,2} 0,14	-	Palumbo et al. (1995)
<i>Salmonella</i> Senftenberg	D ₅₅ 34,3 D ₆₀ 5,60 D ₆₄ 2,80	D ₅₅ 42,0 D ₆₀ 11,8	D ₅₅ 3,0 D ₆₀ 0,8	Humphrey et al. (1990)
	-	D ₆₀ 0,73 D _{61,1} 0,28 D _{62,2} 0,21	-	Palumbo et al. (1995)
Mezcla especies de <i>Salmonella</i>	-	-	D _{55,5} 2,74 D _{56,6} 1,44 D _{57,7} 0,09	Palumbo et al. (1996)
	-	D ₆₀ 0,28 D _{61,1} 0,16 D _{62,2} 0,087	D _{55,1} 7,99 D _{56,7} 2,96 D _{58,3} 1	Schuman y Sheldon (1997)

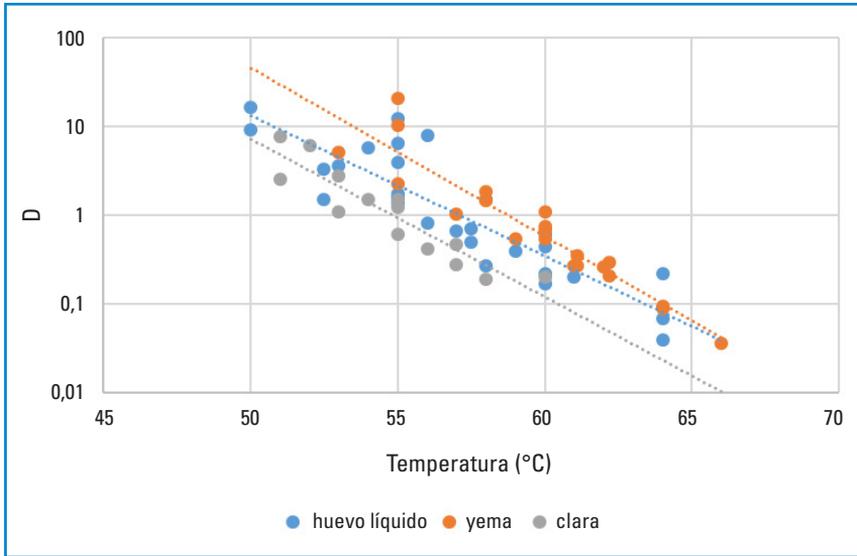


Figura 1. Variación de los valores D en función de la temperatura de tratamiento térmico.

En general, es necesario un incremento de temperatura mínimo de 4 °C para conseguir una reducción decimal del valor de D para *S. Enteritidis* (Tabla 6).

Tabla 6. Valores z para <i>Salmonella</i> Enteritidis en huevo líquido, yema y clara			
Huevo líquido	Yema	Clara	Referencia
-	6,6	-	Palumbo et al. (1995)
3,7-4,2	-	-	Gurtler et al. (2013)
6,1	6,1	6,4	Kang et al. (2018)
-	4,7	-	Jordan et al. (2011)
4	4	5	Michalski et al. (2000)
4	-	4	Jin et al. (2008)

Por otra parte, los estudios de termorresistencia de *L. monocytogenes* en huevo muestran una mayor resistencia de esta bacteria, por lo cual aquellos tratamientos calculados para *Salmonella* podrían permitir la supervivencia de *L. monocytogenes*, de estar presente (Tabla 7).

Tabla 7. Valores D (minutos) para *Listeria monocytogenes* en huevo y sus componentes

Producto	55-56 °C	57-58 °C	59-60 °C	61-62 °C	63-64 °C	65-66 °C	Referencia
Huevo líquido	-	-	1,8-1,95	-	0,49-0,55	-	Muriana et al. (1996)
Yema	-	-	-	0,70-2,30	0,35-1,28	0,19-0,82	Palumbo et al. (1995)
Yema	-	-	1,34	0,89-0,58	-	-	Schuman y Sheldon (1997)
Clara	13	12-8,3	-	-	-	-	Palumbo et al. (1996)
Clara	7,58	4,76	3,47	-	-	-	Schuman y Sheldon (1997)

Sin embargo, puesto que la presencia de *L. monocytogenes* en huevos y ovoproductos es poco frecuente, se calculan los valores de cocinado seguro basados en *Salmonella*. Se considera que una reducción de 5 log ufc es un tratamiento eficiente atendiendo a la presencia esperada de *Salmonella* en el huevo crudo (CDC, 2011). Partiendo de este valor de seguridad, y de los valores estimados a partir de la Figura 1 en yema de huevo, por ser el caso más desfavorable, se puede concluir que los tratamientos adecuados podrían ser, teniendo en cuenta la temperatura interna:

- 121 minutos a 55 °C.
- 7 minutos a 60 °C.
- 37 segundos a 65 °C.
- 2 segundos a 70 °C.

Tratamientos que van en la línea de aquellos propuestos por la FDA (2020a, b). Por lo que respecta al valor establecido en el Real Decreto 1254/1991 (BOE, 1991), el valor de temperatura interna necesaria para no requerir el uso de ovoproducto pasteurizado podría concretarse en 70 °C durante 2 segundos, en cuyo caso no sería necesario el consumo inmediato del alimento cocinado, pero sí el mantenimiento a 8 °C durante 24 horas máximo, puesto que existe posibilidad de contaminación cruzada tras el cocinado, y a temperatura ambiente la multiplicación de *Salmonella* es rápida, tal como muestra la Figura 2.

Sin embargo, estos valores no recogen aquellos tiempos cortos que se dan de forma cotidiana en el cocinado de huevos que no llegan a cuajar completamente. Puesto que la prevalencia de *Salmonella* es baja, y los niveles en huevos se han cifrado en 1-400 células, normalmente con valores menores de 20 células (EFSA, 2014) tratamientos térmicos más suaves con el objetivo de reducir 2-3 log ufc, tras los cuales se proceda al consumo inmediato, pueden considerarse. Atendiendo a los valores presentados en la Figura 1, tales tratamientos podrían ser, atendiendo a la temperatura interna: 65 °C durante 9 segundos, 63 °C durante 20 segundos o 61 °C durante 48 segundos, tratamientos considerados como equivalentes.

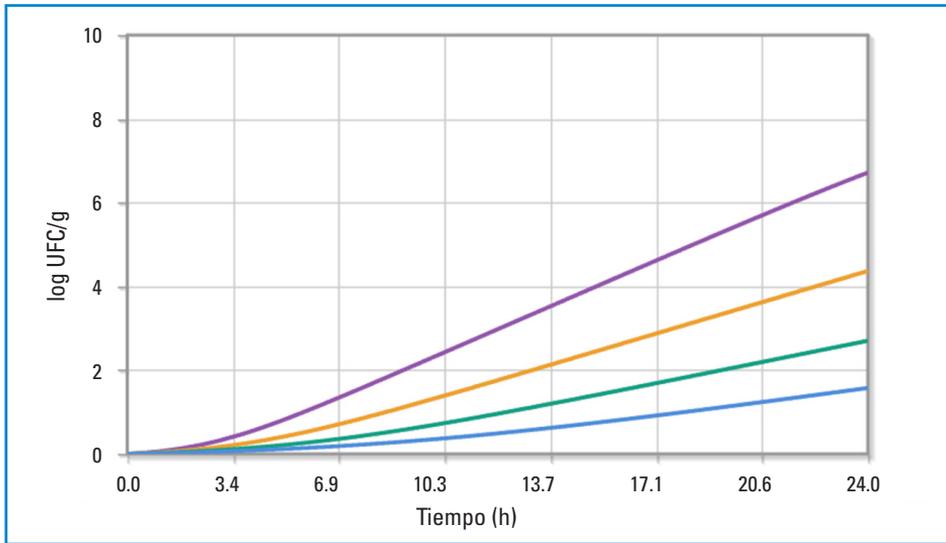


Figura 2. Crecimiento de *Salmonella* en huevo a 25 °C, 30 °C, 35 °C y 40 °C.

Por tanto, se puede considerar que la temperatura interna adecuada para el cocinado de platos que contengan huevo es de 70 °C durante 2 segundos (o tratamiento equivalente). Dicha temperatura interna es la necesaria para no requerir el uso de ovoproductos pasteurizados, con posterior mantenimiento a 8 °C durante un máximo de 24 horas. En el caso del cocinado de huevos cuyo consumo se realice de forma inmediata, el cocinado se debe realizar de forma que en el centro del producto se alcancen 63 °C durante 20 segundos (o tratamiento equivalente). Dicha recomendación es aplicable a distintas preparaciones a base de huevo como huevos fritos y tortillas que, de forma cotidiana, pueden no llegar a cuajar completamente, siempre que se sirvan para su consumo de forma inmediata.

4.4 Vegetales

Los alimentos de origen vegetal comprenden frutas, verduras de hoja y hierbas frescas, raíces y tubérculos, legumbres secas, cereales, semillas comestibles, harinas, semillas para germinar y semillas germinadas, frutos secos, especias y hierbas deshidratadas. Dada la diversidad de los mismos, las fuentes de contaminación pueden variar significativamente según el tipo de cultivo y los sistemas de producción. Las posibles fuentes de contaminación en el entorno, el acceso de animales a los cultivos, la calidad del agua de riego, el saneamiento del suelo y las condiciones higiénicas durante la recolección y la postcosecha, se consideran factores determinantes para la inocuidad. Las verduras tienden a contener tanto una mayor variedad como una mayor concentración de microorganismos esporulados del suelo que las frutas. Por su parte, los virus se transmiten a través de los manipuladores de alimentos.

Por orden de prevalencia, *Yersinia* spp. (23,66 %), las toxinas estafilocócicas (6,98 %), *L. monocytogenes* (2,68 %), *S. aureus* (1,71 %), *Campylobacter* spp. (0,73 %), *Salmonella* spp. (0,48 %) y *E. coli* enteropatógena (0,28 %) son los peligros biológicos en alimentos de origen no animal. Por número de

brotos, los norovirus (34 %), *B. cereus* (23 %), *Salmonella* spp. (17 %), *S. aureus* (11 %), *E. coli* enteropatógena (4 %), *Shigella* spp. (4 %), *C. perfringens* y *C. botulinum* son los principales microorganismos implicados. Sin embargo, *E. coli* enteropatógena muestra el mayor número de casos en humanos en los últimos años, principalmente debido al gran brote de VTEC O104 en Alemania en 2011 asociado con semillas de fenogreco germinadas (3793 casos en humanos, 2353 hospitalizaciones y 53 muertes). Los brotes atribuidos a alimentos de origen no animal están relacionados, principalmente, con el consumo de vegetales crudos, mientras que el número de brotes atribuidos a alimentos de origen vegetal que incluyen algún tratamiento dirigido a inactivar células vegetativas suponen el 24,1 %, y aquellos que incluyen uno o varios ingredientes cocinados, el 11,4 % del total de brotes atribuidos a alimentos de origen no animal (EFSA, 2013).

La intoxicación alimentaria por *B. cereus* se ha relacionado con frecuencia con alimentos tratados térmicamente que favorecen el crecimiento de esta bacteria, especialmente en caso de almacenamiento a temperaturas inadecuadas. Los platos de pasta y arroz cocidos, además de los sustitutos de carne vegetariana, purés de verduras, ensaladas de patata, jugo de naranja concentrado y cebolla en polvo han sido los alimentos que se han visto involucrados en la transmisión de *B. cereus* emético (EFSA, 2005).

Los vegetales tratados más suavemente comprenden alimentos cocinados o pasteurizados. Dentro del cocinado se incluyen técnicas como hornear, hervir, asar, cocer al vapor y freír. Los tratamientos térmicos varían en función de las características de cada producto. Por ejemplo, para obtener la textura adecuada, muchas verduras requieren al menos unos minutos por encima de 90 °C, y para algunos productos varios minutos a 100 °C. La inactivación de las enzimas presentes en frutas y hortalizas, un prerrequisito frecuente para obtener un producto sensorialmente estable durante su vida útil, suele necesitar varios minutos de tratamiento por encima de 80 °C. Los productos vegetales se pasteurizan a muy diversas temperaturas, pero generalmente durante varios minutos a 70 °C o más. Estos tratamientos térmicos generalmente reducen en varios ciclos logarítmicos (por encima de 5) patógenos bacterianos no formadores de esporas, incluyendo *Salmonella*, *L. monocytogenes* y *E. coli* enteropatógena, y el producto debe almacenarse refrigerado para limitar el crecimiento de las esporas bacterianas de *Bacillus* spp. y *Clostridium* spp. que han sobrevivido al tratamiento (Nguyen-The y Carlin, 2000). En este caso, no es el cocinado, si no las condiciones de conservación tras el cocinado las que determinan el riesgo, siendo necesario un correcto mantenimiento de los alimentos en caliente, o bien un abatimiento rápido y correcto de la temperatura. El tratamiento con calor suave puede incluso activar esporas inactivas que pueden germinar, crecer y multiplicarse si los productos se enfrían incorrectamente (Juneja et al., 2018). En cualquier caso, las toxinas de *S. aureus* y *B. cereus* no se destruyen por estos tratamientos (EFSA, 2013).

Por lo general, los alimentos con menor actividad de agua incrementan la termorresistencia de los patógenos bacterianos y virus transmitidos por alimentos, situación que, por lo general, no ocurre en el caso de los productos vegetales que se utilizan para cocinar. Además, los diferentes valores de pH de los alimentos conllevan diferentes valores de D, teniendo un efecto diferente dependiendo de los microorganismos patógenos estudiados. En consecuencia, existe una gran heterogeneidad entre los datos publicados en lo que respecta a las cinéticas de inactivación de los patógenos de transmisión alimentaria, dependiendo del medio o matriz sobre los que se determinan.

En la Tabla 8 se presentan los valores D estimados según los modelos de predicción recogidos en Combase (2021) a diferentes pH, asumiendo una a_w del alimento a cocinar de 0,98 (excepto para *Salmonella*, en el que el valor de a_w utilizado es 0,997).

Tabla 8. Valores D (minutos) para las bacterias patógenas más frecuentes en vegetales (valores obtenidos en medio de cultivo)

pH	Bacterias patógenas	D ₆₀ (minutos)	D ₇₀ (minutos)	D ₈₀ (minutos)	D ₉₀ (minutos)	z (°C)
4,2	<i>Clostridium botulinum</i> no proteolítico	2795,8*	246,9*	10,0-38,5	1,0-4,1	9,5
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,32-1,24	0,04*	-	-	8,9
	<i>Escherichia coli</i>	0,80-3,24	0,01*	-	-	4,9
	<i>Salmonella</i> spp.	0,19-0,80	0,01*	-	-	6,1
4,6	<i>Clostridium botulinum</i> no proteolítico	5011,9*	423,6*	16,3-63,8	1,6-6,3	9,3
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,49-1,90	0,06*	-	-	8,4
	<i>Escherichia coli</i>	0,93-3,73	0,02*	-	-	4,9
	<i>Salmonella</i> spp.	0,24-1,00	0,01*	-	-	5,5
6,0	<i>Clostridium botulinum</i> no proteolítico	25 061,1*	1774,2*	57,7-230,8	4,7-18,6	8,7
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,97-3,85	0,07*	-	-	7,0
	<i>Escherichia coli</i>	1,02-4,11	0,02*	-	-	5,2
	<i>Salmonella</i> spp.	0,50-2,11	-	-	-	4,3

* Valores extrapolados.

Siendo *L. monocytogenes* el patógeno vegetativo más termorresistente, cuya inactivación, como se observa en la Tabla, garantiza la inactivación de *E. coli* y *Salmonella*, y teniendo en cuenta un objetivo de 6D para este microorganismo, el tratamiento recomendado sería un mínimo de 23 minutos a 60 °C, 5 minutos a 65 °C, 30 segundos a 70 °C, 5 segundos a 75 °C o 1 segundo a 80 °C. Teniendo en cuenta la variabilidad asociada al proceso de inactivación, y también las diferencias intraespecíficas, se confirman como adecuadas las combinaciones tiempo-temperatura para el cocinado de vegetales aportados por organismos como la FSA (2020) (Tabla 9).

Tabla 9. Pautas para el cocinado de vegetales con el objetivo de inactivar las células vegetativas de los patógenos bacterianos presentes

Temperatura (°C)	Tiempo requerido
60	45 minutos
65	10 minutos
70	2 minutos
75	30 segundos
80	6 segundos

Todos ellos equivalentes y calculados para una $z=7,6\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Por lo que respecta a los virus, Peng et al. (2017) mostraron una D_{60} de 1-3 minutos para norovirus murinos en alimentos como espinacas y fresas. Para el virus de la hepatitis A, la mayoría de autores mostraron D de varios minutos a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que Harlow et al. (2011) señalaron una D_{60} de 109 minutos o Gibson y Schwab (2011) de 74,6 minutos, en este caso un tratamiento térmico desarrollado para la reducción de 6 log de *L. monocytogenes* no consigue una reducción de 6 log del virus de la hepatitis A. Los valores z de estos virus estarían en el intervalo $10\text{-}20\text{ }^{\circ}\text{C}$, comparado con $\sim 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ para esporas bacterianas (*C. botulinum*) y $\sim 7\text{ }^{\circ}\text{C}$ para células vegetativas de patógenos bacterianos (*L. monocytogenes*) (Peng et al., 2017).

Por último, cabe señalar que la aplicación de calor mediante microondas ha demostrado que son necesarios tratamientos más prolongados para conseguir el mismo efecto de inactivación de *L. monocytogenes* que los tratamientos térmicos convencionales (Szymczak y Dabrowski, 2015).

Por tanto, se puede considerar que la temperatura adecuada para el cocinado de vegetales es de $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 minutos en el centro del producto (o tratamiento equivalente).

5. Conservación en caliente

Existen ciertas diferencias en las recomendaciones de conservación de alimentos en caliente. Así, las recomendaciones de la FDA indican que las comidas calientes deben mantenerse a una temperatura superior a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Incluso la FDA *Food Regulation* (2017) indica que dicha temperatura debe estar por encima de $57\text{ }^{\circ}\text{C}$.

En España, de acuerdo con la legislación española, en concreto el artículo 7 del Real Decreto 3484/2000 (BOE, 2001), las temperaturas de almacenamiento, conservación, transporte, venta y, en su caso, servicio de las comidas preparadas conservadas a temperatura regulada, serán $\geq 65\text{ }^{\circ}\text{C}$ en el caso de comidas calientes. No obstante, los responsables de los establecimientos podrán fijar unas temperaturas distintas, siempre que estén basadas en evidencia científica o técnica y hayan sido verificadas por la autoridad competente.

B. cereus es el único microorganismo patógeno esporulado aerobio capaz de sobrevivir a un tratamiento culinario. La temperatura máxima de crecimiento de *B. cereus sensu lato* descrita en la bibliografía ha sido, para cepas del grupo filogenético VII, de $58,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (habiéndose estimado un intervalo de $57,1\text{-}59,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ como temperatura máxima) (Carlin et al., 2013). Por tanto, no sería capaz de crecer por encima de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$.

C. perfringens es un patógeno esporulado anaerobio también capaz de sobrevivir a un tratamiento culinario. La temperatura máxima de crecimiento descrita en la bibliografía ha sido de $51\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Li y McClane, 2006) o de $52,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ en condiciones estrictas de anaerobiosis (Juneja et al., 2010), por lo que no es capaz de crecer a temperaturas superiores a $53\text{ }^{\circ}\text{C}$.

En un estudio reciente, Ricci et al. (2020) han demostrado que la conservación de comidas preparadas a temperaturas de $62\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante varios días no solo impidió el crecimiento de distintos microorganismos patógenos, sino que también redujo la concentración de *L. innocua* y *E. coli* en, al menos, 5 ciclos logarítmicos. En cuanto a *B. cereus*, no se produjo crecimiento por encima de 100 ufc/g en ningún caso.

Esta información, si bien basada en un único estudio, indica que temperaturas iguales o superiores a 62 °C permiten la conservación de diferentes comidas en caliente sin riesgo microbiológico durante varios días. Además, *B. cereus* no es capaz de crecer ni de producir toxina a temperaturas iguales o superiores a 60 °C (Carlin et al., 2013). Por tanto, se considera que una temperatura de 62 °C es la inferior que garantiza el control de microorganismos patógenos alimentarios durante la conservación, dado que no existen datos científicos contrastables a temperaturas inferiores.

Con el fin de contar con un margen de seguridad adecuado y dado que solo se cuenta con datos de un estudio a 62 °C, se recomienda que la temperatura de conservación en caliente sea de, al menos, 63 °C.

6. Recalentamiento

La información científica existente en relación con el recalentamiento de las comidas preparadas no es especialmente abundante. Podemos considerar ante todo el estudio de Ricci et al. (2020), lo señalado por la ICMSF (1998) y el Proyecto de la Unión Europea EU-RAIN (Bolton y Maunsell, 2004).

De acuerdo con Bolton y Maunsell (2004) el recalentamiento se encuentra dentro de la relación de Puntos de Control Crítico en la restauración colectiva (Tabla 10).

Tabla 10. Puntos de Control Crítico en restauración colectiva relacionados con la conservación en refrigeración y recalentamiento

Puntos de Control Crítico	Límite crítico
1. Enfriamiento	El alimento debe ser colocado bajo almacenamiento refrigerado dentro de los 90 minutos después de cocinado. Esto es, <10 °C en <150 minutos
2. Almacenamiento a refrigeración	-1 a 5 °C
7. Recalentamiento del alimento	≥70 °C (temperatura en el centro) que debe ser alcanzada inmediatamente y servir dentro de ≤30 minutos

Fuente: (Bolton y Maunsell, 2004).

La propia ICMSF (1998), en relación con el control de los alimentos que han sido cocinados, considera igualmente que el recalentamiento es un Punto de Control Crítico para los alimentos refrigerados y cocinados si existe alguna duda acerca del tiempo de conservación después del cocinado o si el enfriamiento fue lento. Las temperaturas de 70 °C o superiores, con exposiciones de al menos de 1 minuto, deben inactivar los niveles de células bacterianas vegetativas que es probable que existan en los alimentos con suficiente humedad manipulados correctamente. Ahora bien, estas temperaturas son insuficientes para inactivar las toxinas termoestables.

Debemos destacar que hay que prestar atención a la posible presencia de toxinas termoestables, dado que las enterotoxinas elaboradas por *S. aureus* (Bergdoll, 1979, 1989) y la toxina emética producida por *B. cereus* son termoestables y no son inactivadas cuando los alimentos se calientan de nuevo. También se debe prestar atención a otras posibles toxinas termoestables producidas por *E. coli* y por otros patógenos entéricos (ICMSF, 1998).

Podemos remarcar que la toxina emética de *B. cereus* es un péptido de bajo peso molecular (peso molecular <5000 daltons) que no es antigénico, pero que es extraordinariamente resistente al calor (126 °C durante 90 minutos), a los valores extremos de pH (estable en el rango de pH comprendido entre 2 y 11) y a la digestión enzimática, es decir es resistente a la tripsina y a la pepsina (Melling y Capel, 1978) (ICMSF, 1996).

Un proceso de origen alimentario muy relacionado con la conservación en caliente (ya comentado en epígrafes anteriores) que nunca hay que descuidar es la posible intoxicación alimentaria producida por *C. perfringens* en algunos productos tratados por el calor, insuficientemente refrigerados y mantenidos a temperaturas de la zona crítica o de riesgo.

Otro punto importante a tener en cuenta es el recalentamiento con microondas y la seguridad alimentaria, siendo necesarios tiempos de recalentamiento más prolongados para conseguir el mismo efecto que otros métodos de calentamiento convencionales (FDA, 2017).

Evidentemente, lo ideal a efectos de inocuidad alimentaria sería no utilizar sobras (alimentos cocinados que no se han consumido y no se han mantenido a las temperaturas adecuadas), puesto que entran en juego diversos y, a veces, complejos factores como la contaminación cruzada, los posibles abusos de temperatura en la conservación, la formación de los manipuladores, etc. El cumplimiento de las Buenas Prácticas de Higiene o Guías de Prácticas Correctas de Higiene, como ya se ha indicado anteriormente, debe implantarse concienzudamente.

Hay que prestar una especial atención en relación con el recalentamiento a una de las tecnologías culinarias ampliamente usadas hoy en día en la cocina de colectividades, la denominada “línea fría” o “línea fría completa”, ya introducida en el mercado desde hace algunos años (Bouétard y Santos, 2009), que en muchos casos abarata los costes. El recalentamiento es clave a nivel de la calidad organoléptica del producto, pero por otra parte hay que prevenir la existencia de “zonas de peligro” o de “abuso de temperatura”, que podrían permitir el crecimiento de microorganismos patógenos alimentarios.

La FDA recomienda recalentar los alimentos cocinados hasta alcanzar una temperatura en el centro del producto de 74 °C durante 15 segundos (FDA, 2017). En pescado, la Norma Oficial Mexicana establece que es necesario alcanzar una temperatura interna de 74 °C durante 15 segundos (NOM, 2019).

En un estudio realizado en Turquía (Däg, 2020), se señala que en los alimentos recalentados, la temperatura en el centro del producto debe alcanzar temperaturas de 75-80 °C y debe mantenerse durante 2 minutos, condiciones similares a las recomendadas para el cocinado en dicho estudio. Además, se señala que los alimentos sometidos al proceso de enfriamiento, la temperatura debería reducirse rápidamente a 21 °C en 2 horas y <4 °C en 4 horas.

En estudios realizados en carne, se ha señalado que para evitar el crecimiento de *C. perfringens* que haya podido sobrevivir al cocinado es necesario realizar un enfriamiento rápido a 27 °C en 30 minutos y a 4 °C en 2,5 horas (Li et al., 2019b).

Teniendo en cuenta las recomendaciones existentes y la bibliografía consultada, se recomienda que las comidas cocinadas deben ser refrigeradas rápidamente alcanzando en el centro temperaturas de 4 °C en 2,5 horas y posterior conservación a temperaturas de 4 °C o inferiores. Se recomienda realizar el recalentamiento de las comidas preparadas y convenientemente refrigeradas a tempe-

raturas de al menos 74 °C en el centro del producto durante 15 segundos, a efectos de inocuidad o seguridad alimentaria. Desde el punto de vista de la inocuidad alimentaria, en principio, no se recomienda la utilización de sobras. No obstante, en el caso de haber procedido al enfriamiento y refrigeración en condiciones adecuadas, las sobras podrán utilizarse recalentando a temperaturas de al menos 74 °C durante 15 segundos, siendo más conveniente prolongar dicho tratamiento hasta 2 minutos. Se debe remarcar la necesidad de un estricto control de temperaturas (tiempo y temperatura) y seguir buenas prácticas de higiene.

7. *Slow cooking*

El sistema de cocción lenta (*slow cooking*) proviene de Estados Unidos. Sus orígenes se sitúan en la década de los 40 del siglo pasado, en el momento en que las mujeres salen de casa para ir a trabajar y, al volver, ya se encuentran la comida preparada utilizando este sistema.

El diseño básico de las ollas de cocción lenta consiste en una base de cerámica o porcelana (*crock pot*) que se inserta en una base eléctrica que es la que permite cocinar a temperaturas bajas durante largos periodos de tiempo. Así, las temperaturas de cocinado se sitúan de forma orientativa entre 71-74 °C; aunque existen ollas de cocción lenta que pueden alcanzar 79-93 °C y siempre manteniendo constante la temperatura. Estas ollas cierran herméticamente por lo que el vapor retorna al líquido. Es necesario asegurarse de que el sistema cerámico *crock* sea seguro y que permita una fácil limpieza, para que el cocinado sea adecuado y seguro.

Las ollas *crock pot* solo tienen dos tipos de temperaturas de cocinado (ALTA y BAJA); también incluyen una función de calentamiento, que mantiene caliente el alimento después del cocinado. En el mercado coexisten diferentes marcas, por lo cual es difícil establecer la temperatura en grados Celsius, que corresponde a cada función, alta y baja. En principio, en algunas marcas, la función BAJA puede alcanzar los 90 °C, por lo que es necesario para el consumidor tener unos gráficos de temperatura/tiempo en grados Celsius para controlar la seguridad de la cocción, puesto que muchos gráficos se muestran en grados Fahrenheit o incluso en el sistema imperial, dado el origen estadounidense de este sistema de cocción.

La USDA-FSIS (2021) posee una página dedicada a las ollas de cocción lenta y su seguridad. La cocción en una olla lenta es segura ya que el rango de temperaturas es de 170 a 280 grados Fahrenheit, que en grados Celsius representaría unos 76,6 a 137 °C. Al estar el recipiente de cerámica sobre la placa eléctrica y completamente tapado, ambos factores se combinan para rebajar la incidencia de bacterias en el cocinado. En este sentido sería adecuado tener claro a qué temperaturas se está trabajando, puesto que normalmente las casas comerciales proporcionan unos márgenes en los que las ollas hacen su cocción, ya que no existe una correlación entre las funciones ALTA y/o BAJA y las diversas temperaturas.

Por otra parte, existe una lixiviación de las vitaminas hidrosolubles, aunque también quedan concentradas en el líquido en cuestión y se pierden en menor cantidad que en otros tratamientos tradicionales

La seguridad de la cocción lenta se ha demostrado en el trabajo de Burnham et al. (2006), mediante un modelo predictivo en *Salmonella* serovars, *E.coli* O157:H7 y *S.aureus*.

Conclusiones del Comité Científico

- En el cocinado y manipulación de alimentos es esencial mantener prácticas correctas de higiene para evitar la contaminación y la posible aparición de brotes de enfermedades de transmisión alimentaria. Especial atención debe prestarse a la higiene de personal, equipos y utensilios.
- No se deben utilizar alimentos e ingredientes contaminados, ni de procedencia desconocida.
- Para garantizar un cocinado seguro de los alimentos es conveniente establecer combinaciones tiempo-temperatura adecuadas en base a criterios científicos.
- En general, el cocinado de carne se debe realizar de forma que se alcance una temperatura de 70 °C en el centro del producto durante al menos 1 segundo (o tratamiento equivalente); en carne de aves se recomienda que dicha temperatura sea de 74 °C durante al menos 1 segundo (o tratamiento equivalente). En el caso de carnes de vacuno y cerdo (filetes, chuletas, etc.), es recomendable alcanzar una temperatura de 63 °C en el centro del producto durante al menos 1 segundo, con una temperatura de reposo de 3 minutos, mientras que para las carnes de ave de corral esa temperatura debe elevarse a 74 °C.
- El cocinado de pescado se debe realizar a una temperatura de 68 °C durante al menos 15 segundos (o tratamiento equivalente), temperatura a alcanzar en el centro del producto, si bien depende del método de cocinado. En el caso de pescados rellenos la temperatura a alcanzar en el centro del producto es de 74 °C durante al menos 15 segundos (o tratamiento equivalente). El cocinado de moluscos crudos debe realizarse a 90 °C durante al menos 90 segundos en agua hirviendo (o tratamiento equivalente).
- La temperatura interna adecuada para el cocinado de platos que contengan huevo es de 70 °C durante al menos 2 segundos (o tratamiento equivalente). Dicha temperatura interna es la necesaria para no requerir el uso de ovoproductos pasteurizados, con posterior mantenimiento a 8 °C durante un máximo de 24 horas.
- En el caso del cocinado de huevos cuyo consumo se realice de forma inmediata, el cocinado se debe realizar de forma que en el centro del producto se alcancen 63 °C durante al menos 20 segundos (o tratamiento equivalente). Dicha recomendación es aplicable a distintas preparaciones a base de huevo como huevos fritos y tortillas, que, de forma cotidiana, pueden no llegar a cuajar completamente, siempre que se sirvan para su consumo de forma inmediata.
- En el cocinado de vegetales se considera adecuada la combinación 70 °C durante al menos 2 minutos en el centro del producto (o tratamiento equivalente).
- Para la conservación en caliente de las comidas preparadas se recomiendan temperaturas de al menos 63 °C.
- Las comidas preparadas deben ser refrigeradas de forma inmediata alcanzando temperaturas de 4 °C en 2,5 horas.
- El mantenimiento de las comidas preparadas en refrigeración se debe realizar a temperaturas de 4 °C o inferiores.
- El recalentamiento de comidas preparadas se debe realizar a temperaturas de al menos 74 °C durante al menos 15 segundos en el centro del producto.

- Desde el punto de vista de la inocuidad alimentaria, no se recomienda la utilización de sobras. En el caso de haber procedido al enfriamiento y refrigeración en condiciones adecuadas, podrán utilizarse recalentando a temperaturas de al menos 74 °C durante al menos 15 segundos en el centro del producto.
- Si el cocinado o recalentamiento se realiza en microondas el tiempo de cocinado necesario es más prolongado que el indicado en los apartados anteriores.
- Todas las recomendaciones anteriores son aplicables siempre y cuando se cumplan estrictas medidas higiénicas y las etapas previas se realicen de forma correcta (cocinado, enfriamiento, mantenimiento en refrigeración).
- En todas las etapas es necesario un estricto control de temperatura y tiempo.

Referencias

- Augustin, J.C., Carlier, V. y Rozier, J. (1998). Mathematical modelling of the heat resistance of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Microbiology*, 84 (2), pp: 185-191.
- Baranyi, J. y Tamplin, M. (2004). ComBase: A common database on microbial responses to food environments. *Journal of Food Protection*. 67, pp:1967-1971.
- Baron, F. y Jan, S. (2011). Egg and egg product microbiology. En libro: *Improving the safety and quality of eggs and egg products*. Vol. 1: Egg chemistry, production and consumption. Nys, Y., Bain, M. y Van Immerseel, F. Cambridge. Woodhead Publishing Limited, pp: 330-350.
- Baron, F., Jan, S. y Jeantet, R. (2010). Qualité microbiologique des ovoproduits. En libro: *Science et technologie de l'œuf*. Volume 2: De l'œuf aux ovoproduits. Nau, F., Guérin-Dubiard, C., Baron, F. y Thapon, J.L. Editions TEC & DOC, pp: 321-349.
- Ben, P.K. y Huss, H. (1993). Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged pasteurized fish fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 20 (2), pp: 85-95.
- Bergdoll, M. (1979). *Staphylococcus aureus*. En libro: *Food-borne infections and intoxication 2ª Ed*. Riemann, H. y Bryan, F.L. Nueva York. Academic Press, pp: 463-524.
- Bergdoll, M. (1989). *Staphylococcus aureus*. En libro: *Foodborne bacterial pathogens*. Doyle, M.P. Nueva York. Marcel Dekker, pp: 463-524.
- BOE (1991). Real Decreto 1254/1991, de 2 de agosto, por el que se dictan normas para la preparación y conservación de la mayonesa de elaboración propia y otros alimentos de consumo inmediato en los que figure el huevo como ingrediente. BOE N° 185 de 3 de agosto de 1991, pp: 25741-25742.
- BOE (2001). Real Decreto 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. BOE N° 11 de 12 de enero de 2001, pp: 1435-1441.
- Bolton, D.J. y Maunsell, B. (2004). Guidelines for Food Safety Control in European Restaurants. EU-RAIN Project U.E. Teagasc-The National Food Centre, Dublin, Ireland.
- Bouétard, J. y Santos, J.J. (eds.) (2009). La línea fría completa. Organización de cocinas centrales. Innovaconcept, Salamanca.
- Boyle, D.L., Sofos, J.N. y Schmidt, G.R. (1990). Thermal destruction of *Listeria monocytogenes* in a meat slurry and in ground beef. *Journal of Food Science*, 55 (2), pp: 327-329.
- Brown, L.G., Khargonekar, S. y Bushnell, L. (2013). Frequency of inadequate chicken cross-contamination prevention and cooking practices in restaurants. *Journal of Food Protection*, 76 (12), pp: 2141-2145.
- Burnham, G.M., Fanslau, M.A. y Ingham, S.C. (2006). Evaluating microbial safety of slow partial-cooking processes for bacon: Use of a predictive tool based on small-scale isothermal meat inoculation studies. *Journal of Food Protection*, 69 (3), pp: 602-608.

- Carlin, F., Albagnac, C., Rida, A., Guinebretiere, M.H., Couvert, O. y Nguyen-the, C. (2013). Variation of cardinal growth parameters and growth limits according to phylogenetic affiliation in the *Bacillus cereus* Group. Consequences for risk assessment. *Food Microbiology*, 33 (1), pp: 69-76.
- CDC (2011). Centers for Disease Control and Prevention. How restaurants prepare eggs. Disponible en: https://www.cdc.gov/nceh/ehs/ehsnet/plain_language/how-restaurants-prepare-eggs.pdf [acceso: 9-02-21].
- Codex Alimentarius (1993). Código de prácticas de higiene para los alimentos precocinados y cocinados utilizados en los servicios de comidas para colectividades. CAC/RCP 39-1993.
- Däg, A. (2020). Assessment of microbiological quality of ready-to-eat foods in institutions providing mass feeding. *Progress in Nutrition*, 22 (1), pp: 68-74.
- De Buck, J., Van Immerseel, F., Haesebrouck, F. y Ducatelle, R. (2004). Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination by *Salmonella*. *Journal of Applied Microbiology*, 97, pp: 233-245.
- Deak, T. (2014). Thermal treatment. En libro: *Food safety management*. Motarjemi, Y. y Leliveld, H. Amsterdam. Academic Press, pp: 424-441.
- Doherty, A.M., McMahn, C.M.M., Sheridan, J.J., Blair, I.S., McDowell, D.A. y Hegarty, T. (1998). Thermal resistance of *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in meat and potato substrates. *Journal of Food Safety*, 18 (2), pp: 69-83.
- Doyle, M.P. y Cliver, D.O. (1990). *Salmonella*. En libro: *Foodborne Diseases*. Cliver, D.O. Nueva York. Academic Press, Inc., pp: 186-204.
- Dudeja, P. y Singh, A. (2017). Safe cooking practices and food safety in home kitchen and eating establishment. En libro: *Food Safety in the 21st Century*. Dudeja, P., Gupta, R. y Singh, A. Amsterdam. Elsevier, pp: 373-385.
- EFSA (2005). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to *Clostridium* spp. in foodstuffs. *EFSA Journal*, 199, pp: 1-65.
- EFSA (2010). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*, 8 (4), pp: 1543.
- EFSA (2013). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations). *EFSA Journal*, 11 (1), pp: 3025.
- EFSA (2014). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the public health risks of table eggs due to deterioration and development of pathogens. *EFSA Journal*, 12 (7), pp: 3782.
- EFSA (2015). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on evaluation of heat treatments, different from those currently established in the EU legislation, that could be applied to live bivalve molluscs from B and C production areas, that have not been submitted to purification or relaying, in order to eliminate pathogenic microorganisms. *EFSA Journal*, 13 (12), pp: 4332.
- EFSA (2017). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y Centro Europeo de Prevención y Control de Enfermedades. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal*, 15 (12), pp: 5077.
- EFSA (2019). Autoridad Europea de Seguridad y Centro Europeo de Prevención y Control de Enfermedades. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 17 (12), pp: 5926.
- El-Lahamy, A.A., Khalil, K.I., El-Sherif, S.A., Ibrahim, H.R. y Mahmud, A.A. (2019). Changes in fish during cooking methods (frying and grilling): A review. *Journal Public Health Catalog*, 2 (2), pp: 169-172.
- El-Sherif, S.A., Ibrahim, S.M. y Abou-Taleb, M. (2011). Relationship between frozen pre-storage period on raw Tilapia and Mullet fish and quality criteria of its cooked products. *Egyptian Journal Aquatic Research*, 37 (2), pp: 183-189.
- Fain, A.R. Jr., Line, J.E., Moran, A.B., Martin, L.M., Lechowich, R.V., Carosella, J.M. y Brown, W.L. (1991). Lethality of heat to *Listeria monocytogenes* Scott A: D-value and z value determinations in ground beef and turkey. *Journal of Food Protection*, 54 (10), pp: 756-761.

- FDA (2016). Food and Drug Administration. Egg Safety: What you need to know. Disponible en: <https://www.fda.gov/media/82227/download> [acceso: 9-02-21].
- FDA (2017). Food and Drug Administration. Food Code. U.S. Public Health Service. <https://www.fda.gov/media/110822/download>. [acceso: 9-02-21]
- FDA (2020a). Food and Drug Administration. Safe minimum cooking temperatures charts. Disponible en: <https://www.foodsafety.gov/food-safety-charts/safe-minimum-cooking-temperature>. [acceso: 9-02-21].
- FDA (2020b). Food and Drug Administration. Key temperatures for egg safety in food service operations and retail food stores. Disponible en: <https://www.fda.gov/media/77733/download> acceso: 9-02-21].
- Flannery, J., Rajko-Nenow, P., Winterbourn, J.B., Malham, S.K. y Jones, D.L. (2014). Effectiveness of cooking to reduce Norovirus and infectious F-specific RNA bacteriophage concentrations in *Mytilus edulis*. *Journal of Applied Microbiology*, 117 (2), pp: 564-571.
- FSA (2020). Food Standards Agency. Safer food, better business. Disponible en: <https://www.food.gov.uk/business-guidance/safer-food-better-business-sfbb> [acceso: 9-02-21].
- FSAI (2018). The Food Safety Authority of Ireland. Temperature control. Disponible en: https://www.fsai.ie/faqs/temperature_control.html [acceso: 9-02-21].
- FSAI (2020). The Food Safety Authority of Ireland. Safe catering. Disponible en: <https://www.fsai.ie/safecatering/> [acceso: 9-02-21].
- García, G.W., Genigeorgis, C. y Lindroth, S. (1987). Risk of growth and toxin production by *Clostridium botulinum* non-proteolytic types B, E and F in salmon fillets stored under modified atmospheres at low and abused temperatures. *Journal of Food Protection*, 50 (4), pp: 330-336.
- Garre, A., Clemente-Carazo, M., Fernández, P.S., Lindqvist, R. y Egea, J.A. (2018). Bioinactivation FE: A free web application for modelling isothermal and dynamic *microbial inactivation*. *Food Research International*, 112, pp: 353-360.
- Gibson, K.E. y Schwab, K.J. (2011). Thermal Inactivation of Human Norovirus Surrogates. *Food and Environmental Virology*, 3, pp: 74-77.
- Goodfellow, S.J. y Brown, W.L. (1978). Fate of Salmonella inoculated into beef for cooking. *Journal of Food Protection*, 41 (8), pp: 598-605.
- Gormley, F.J., Rawal, N. y Little, C.L. (2012). Choose your menu wisely: cuisine-associated food-poisoning risks in restaurants in England and Wales. *Epidemiology and Infection*, 140 (6), pp: 997-1007.
- Graham, A. y Lund, B. (1993). The effect of temperature on the growth of non-proteolytic type B *Clostridium botulinum*. *Letters in Applied Microbiology* 16, pp: 158-160.
- Gram, L. y Huss, H.H. (2000). Fresh and processed fish and shellfish. En libro: *The microbiological safety and quality of food*. Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. Gaithersburg. Aspen Publishers, pp: 472-506.
- Gurtler, J.B., Marks, H.M., Bailey, R.B., Juneja, V. y Jones, D.R. (2013). Kinetics model comparison for the inactivation of *Salmonella* serotypes Enteritidis and Oranienburg in 10 % salted liquid whole egg. *Foodborne Pathogens and Disease*, 10 (6), pp: 492-499.
- Harlow, J., Oudit, D., Hughes, A. y Mattison, K. (2011). Heat Inactivation of Hepatitis A Virus in Shellfish Using Steam. *Food and Environmental Virology*, 3 (1), pp: 31-34.
- Heldman, D.R. y Newsom, R.L. (2003). Kinetic models for microbial survival during processing. *Food Technology* Chicago, 57 (8), pp: 40-46.
- Herrera, C., Santos, J.A., Otero, A. y García-López, M.L. (2006). Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackaged portions of marine fish in Spain. *Journal of Applied Microbiology*, 100 (3), pp: 527-536.
- Humphrey, T.J. (1994). Contamination of egg shell and contents with *Salmonella enteritidis*: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 21 (1-2), pp: 31-40.
- Humphrey, T.J., Chapman, P.A., Rowe, B. y Gilbert, R.J. (1990). A comparative study of the heat resistance of salmonellas in homogenized whole egg, egg yolk or albumen. *Epidemiology and Infection*, 104 (2), pp: 237-241.

- ICMSF (1996). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in Foods 5. *Characteristics of Microbial Pathogens*. Londres. Blackie Academic & Professional.
- ICMSF (1998). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Preventing abuse of foods after processing. En libro: *Micro-Organisms in Foods 6*. Boston. Springer, pp: 577-597.
- ICMSF (2005). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods 6: microbial ecology of food commodities. 2nd edition. Nueva York. Kluwer Academic & Plenum Publishers.
- ILSI (2012). International Life Sciences Institute. Risk Assessment Approaches to Setting Thermal Processes in Food Manufacture. ILSI Europe Report Series. Brussels: ILSI, pp: 1-40.
- Jemmi, T., Son-Il Pak, S. y Salman, M.D. (2002). Prevalence and risk factors for contamination with *Listeria monocytogenes* of imported and exported meat and fish products in Switzerland, 1992–2000. *Preventive Veterinary Medicine*, 54 (1), pp: 25-36.
- Jin, T., Zhang, H., Boyd, G. y Tang, J. (2008). Thermal resistance of *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* K12 in liquid egg determined by thermal-death-time disks. *Journal of Food Engineering*, 84 (4), pp: 608-614.
- Jordan, J.S., Gurtler, J.B., Marks, H.M., Jones, D.R. y Shaw, W.K.Jr. (2011). A mathematical model of inactivation kinetics for a four-strain composite of *Salmonella* Enteritidis and Oranienburg in commercial liquid egg yolk. *Food Microbiology*, 28 (1), pp: 67-75.
- Juneja, V.K., Eblen, B.S. y Ransom, G.M. (2001). Thermal inactivation of *Salmonella* spp. in Chicken Broth, Beef, Pork, Turkey, and Chicken: Determination of D- and Z-values. *Journal of Food Science*, 66 (1), pp: 146-152.
- Juneja, V.K., Huang, L. y Yan, X. (2011). Thermal inactivation of foodborne pathogens and the USDA pathogen modelling program. *Journal of Thermal Analysis*, 106 (1), pp: 191-198.
- Juneja, V.K., Mohr, T.B., Silverman, M. y Snyder, O.P. (2018). Influence of cooling rate on growth of *Bacillus cereus* from spore inocula in cooked rice, beans, pasta, and combination products containing meat or poultry. *Journal of Food Protection*, 81, pp: 430-436.
- Juneja, V.K., Novak, J.S. y Labbe, R.J. (2010). *Clostridium perfringens*. En libro: *Pathogens and Toxins in Foods: Challenges and Interventions*. Juneja, V.K. y Sofos, J.N. Washington DC. ASM Press, pp: 53-70.
- Kang, I.B., Kim, D.H., Jeong, D., Park, J.H., Lim, H.W. y Seo, K.H. (2018). Heat resistance of *Salmonella* Enteritidis in four different liquid egg products and the performance and equivalent conditions of Ministry of Food and Drug Safety of South Korea and US Department of Agriculture protocols. *Food Control*, 94 (12), pp: 1-6.
- Kenney, S.J. y Beuchat, L.R. (2004). Survival, growth, and thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in products containing peanut and chocolate. *Journal of Food Protection*, 67 (10), pp: 2205-2211.
- Kim, S.S., Yun, S.J., Lee, S.H., Hwang, I.G. y Rhee, M.S. (2013). Temperature increase of foods in a car trunk and the potential hazard for microbial growth. *Food Control*, 29 (1), pp: 66-70.
- Li, J. y McClane, B.A. (2006). Further comparison of temperature effects on growth and survival of *Clostridium perfringens* type A isolates carrying a chromosomal or plasmid-borne enterotoxin gene. *Applied and Environmental Microbiology*, 72 (7), pp: 5461-4568.
- Li, Y., Pei, X., Yan, J., Liuc, D., Zhang, H., Yu, B. Li, N. y Yang, D. (2019a). Prevalence of foodborne pathogens isolated from retail freshwater fish and shellfish in China. *Food Control*, 99, pp: 131-136.
- Li, M., Huangb, L., Zhua, Y. y Weia, Q. (2019b). Growth of *Clostridium perfringens* in roasted chicken and braised beef during cooling - One-step dynamic analysis and modelling. *Food Control*, 106 (2), pp: 106739.
- Lund, B.M. y O'Brien, S.J. (2009). Microbiological safety of food in hospitals and other healthcare settings. *Journal of Hospital Infection*, 73 (2), pp: 109-120.
- Lund, B.M. y Peck, M.W. (2000). *Clostridium botulinum*. In The microbiological safety and quality of food, ed. Lund, Aspen, Gaithersburg, pp: 1057-1109.
- Machado, S., Carmo da Silva, D. y César, E. (2020). Effect of curing and heat treatments on the *Salmonella* survival and physicochemical properties of chicken egg yolk. *Food Research International*, 137, pp: 109680.
- McLauchlin, J. y Nichols, G. (1994). *Listeria* and seafood. *PHLS Microbiol Digest*, 11 (3), pp: 151-154.

- Melling, J. y Capel, B.J. (1978). Characteristics of *Bacillus cereus* emetic toxin. *FEMS Microbiology Letters*, 4 (3), pp: 133-135.
- Messens, W., Fernandez, P.S., Lees, D., Lindqvist, R., O'Mahony, M., Suffredin, E., Cortiñas, J., Chantzis, E. y Koutsoumanis, K. (2017). Thermal processing of live bivalve molluscs for controlling viruses: on the need for a risk-based design. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58 (16), pp: 2854-2865.
- Michalski, C.B., Brackett, R.E., Hung, Y.C. y Ezeike, G.O. (2000). Use of capillary tubes and plate heat exchanger to validate U.S. Department of Agriculture pasteurization protocols for elimination of *Listeria monocytogenes* in liquid egg products. *Journal of Food Protection*, 63 (7), pp: 921-925.
- Miconnet, N., Geeraerd, A.H., VanImpe, J.F., Rosso, L. y Cornu, M. (2005). Reflections on the use of robust and least-squares non-linear regression to model challenge tests conducted in/on food products. *International Journal of Food Microbiology*, 104 (2), pp: 161-177.
- Muriana, P.M., Hou, H. y Singh, R.K. (1996). A flow-injection system for studying heat inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in liquid whole egg. *Journal of Food Protection*, 59, pp: 121-126.
- Murphy, R.Y., Marks, B.E., Johnson, E.R. y Johnson, M.G. (2000). Thermal inactivation kinetics of *Salmonella* and *Listeria* in ground chicken breast meat and liquid medium. *Journal of Food Science*, 65 (4), pp: 706-710.
- Nguyen-The, C. y Carlin, F. (2000). Fresh and processed vegetables. En libro: Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. eds. *The microbiological safety and quality of food*. Vol. I. Gaithersburg, M.D.: Aspen Publishers, pp: 621-684.
- Nilsson, L., Gram, L. y Bremmer, H.A. (2002). Improving the control of pathogens in fish products. In *Safety and Quality Issues in Fish Processing*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, pp: 54-84.
- NOM (2019). Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009. Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. Disponible en: <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/3980/salud/salud.htm> [acceso: 9-02-21].
- OMS (1989). Organización Mundial de la Salud. Safe food handling. A training guide for managers of food service establishments, Ginebra, pp: 142.
- Orta-Ramirez, A. y Smith, D.M. (2002). Thermal inactivation of pathogens and verification of adequate cooking in meat and poultry products. *Advances in Food and Nutrition Research*, 44, pp: 147-94.
- Orta-Ramirez, A., Price, J.E., Hsu, Y.C., Veeramuthu, G.J., Cherry-Merritt, J.S. y Smith, D.M. (1997). Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and enzymes with potential as time-temperature indicators in ground beef. *Journal of Food Protection*, 60 (5), pp: 471-475.
- Palumbo, M.S., Beers, S.M., Bhaduri, S. y Palumbo, S.A. (1995). Thermal Resistance of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in Liquid Egg Yolk and Egg Yolk Products. *Journal of Food Protection*, 58, pp: 960-966.
- Palumbo, M.S., Beers, S.M., Bhaduri, S. y Palumbo, S.A. (1996). Thermal resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in liquid egg white. *Journal of Food Protection*, 58 (9), pp: 1182-1186.
- Peleg, M. (2006). Letter to the editor: on the heat resistance of *Salmonella*, *Listeria*, and *E. coli* O157:H7 in meats and poultry. *Journal of Food Science*, 71 (7), pp: 9-10.
- Peng, J., Tang, J., Barrett, D.M., Sablani, S.S., Anderson, N. y Powers, J.R. (2017). Thermal pasteurization of ready-to-eat foods and vegetables: Critical factors for process design and effects on quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57 (14), pp: 2970-2995.
- Pin, C., Sutherland, J.P. y Baranyi, J. (1999). Validating predictive models of food spoilage organisms. *Journal of Applied Microbiology*, 87 (4), pp: 491-499.
- Poumeyrol, G., Morelli, E., Rosset, P. y Noel, V. (2014). Probabilistic evaluation of *Clostridium perfringens* potential growth in order to validate a cooling process of cooked dishes in catering. *Food Control*, 35, pp: 293-299.
- Rabiela, M.C. (2015). Higiene y conservación del pescado. *Hospitalidad ESDAI*, (28), pp: 41-60. Disponible en: <https://revistas.up.edu.mx/ESDAI/article/view/1482> [acceso: 9-02-21].

- Ricci, A., Martelli, F., Razzano, R., Cassi, D. y Lazzi, C. (2020). Service temperature preservation approach for food safety: Microbial evaluation of ready meals. *Food Control*, 115, pp: 107297.
- Rosnes, J.T., Skåra, T. y Skipnes, D. (2011). Recent Advances in Minimal Heat Processing of Fish: Effects on Microbiological Activity and Safety. *Food Bioprocess Technology*, 4, pp: 833-848.
- Safaeian, S. y Khanzadi, S. (2018). Microbiology of Fish and Seafood. First national conference on recent advances in engineering modern science.
- Schuman, J.D. y Sheldon, B.W. (1997). Thermal resistance of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in liquid egg yolk and egg white. *Journal of Food Protection*, 60, pp: 634-638.
- Smelt, J.P.P.M y Brul, S. (2014). Thermal inactivation of microorganisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54, pp: 1371-1385.
- Stumbo, C. (1973). Thermobacteriology in food processing. 2ª edición. Academic Press.
- Szymczak, B. y Dabrowski, W. (2015). Effect of filling type and heating method on prevalence of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* in dumplings produced in Poland. *Journal of Food Science*, 80, pp: M1060-M1065.
- Talab, S.A. (2014). Effect of cooking methods and freezing storage on the quality characteristics of fish cutlets. *Journal of Food Science and Technology*, 6, pp: 468-479.
- Taylor, L.Y., Cann, D.D. y Welch, B.J. (1990). Antibotulinal properties of nisin in fresh fish packaged in an atmosphere of carbon dioxide. *Journal of Food Protection*, 53, pp: 953-957.
- Taylor, S. (1992). *Advances in Food and Nutrition Research*, Elsevier.
- Thomas, C., Daughtry, B., Padula, D., Jordan, D., Arzey, G., Davey, K., Holds, G., Slade, J. y Pointon, A. (2006). En libro: Egg: *Salmonella* Quantitative Risk Assessment Model for the Australian Egg Industry. Australian Egg Corporation Limited, Australia.
- UE (2004). Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, relativo a la higiene de los alimentos de origen animal. DO L 139 de 30 de abril 2004, pp: 55-205.
- USDA-FDA (2020). U.S. Department of Health and Human Services-Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Fish and fishery product hazards and control guidance.
- USDA-FSIS (1985). US Department of Agriculture-Food Safety Inspection Service. The Safe Food Book-Your Kitchen Guide. FSIS Home and Garden Bull. No. 241, Washington, DC.
- USDA-FSIS (1993). US Department of Agriculture-Food Safety Inspection Service. Instructions for verifying internal temperature and holding time of meat patties. FSIS Directive 7370.1.
- USDA-FSIS (1997). US Department of Agriculture-Food Safety Inspection Service. USDA advises consumers to use a meat thermometer when cooking hamburger. FSIS News and Information Bulletin.
- USDA-FSIS (2020). US Department of Agriculture-Food Safety Inspection Service. Safe Minimum Internal Temperature Chart. Disponible en: https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/safe-food-handling/safe-minimum-internal-temperature-chart/ct_index [acceso: 9-02-21].
- USDA-FSIS (2021). US Department of Agriculture-Food Safety Inspection Service. Having Beef Brisket for Passover? Disponible en: <https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/appliances-and-thermometers/slow-cookers-and-food-safety> [acceso: 14-01-21].
- Valdramidis, V.P., Bernaerts, K., Van Impe, J.F. y Geeraerd, A.H. (2005). An alternative approach to non-log-linear thermal microbial inactivation: modelling the number of log cycles reduction with respect to temperature. *Food Technology and Biotechnology*, 43, pp: 321-327.
- Valdramidis, V.P., Geeraerd, A.H., Bernaerts, K. y VanImpe, J.F. (2006). Microbial dynamics versus mathematical model dynamics: the case of microbial heat resistance induction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 7, pp: 80-87.
- Vega, C. y Mercadé-Prieto, R. (2011). Culinary Biophysics: On the nature of the 6X°C egg. *Food Biophysics*, 6, pp: 152-159.

- Wang, X., Lahou, E., DeBoeck, E., Devlieghere, F., Geeraerd, A. y Uyttendaele, M. (2015). Growth and inactivation of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in broth and validation in ground pork meat during simulated home storage abusive temperature and home pan-frying. *Frontiers. Microbiology*, 6, pp: 1161.
- Wieczorek, K. y Osek, J. (2017). Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from fresh and smoked fish in Poland. *Food Microbiology*, 64, pp: 164-171.