revista del Comité Científico de la aesan

Nº 36

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

GOBIERNO DE ESPAÑA
MINISTERIO DE CONSUMO
agencia española de seguridad alimentaria y nutrición

Revista del Comité Científico de la AESAN

Madrid, 2022

revista del Comité Científico de la aesan

Nº 36

Nota: los informes que se incluyen a continuación son el resultado de las consultas que la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y otras instituciones hacen al Comité Científico. Esta revista y sus informes se presentan conforme a normas de presentación y publicación de bibliografía científica internacionalmente aceptadas. De ello se deriva, entre otras, la necesidad de abordar su estudio e interpretación desde la consideración ineludible de las citas bibliográficas referenciadas en el texto y enumeradas en el apartado "Referencias" que incluye al final de los informes. Lo contrario, además de dificultar su comprensión integral, pudiera llevar a extraer, conclusiones parciales o equivocadas, divergentes del informe en su conjunto.

Consejo Editorial Científico

Presidenta
Magdalena Rafecas Martínez - (Universitat de Barcelona)

Vicepresidente
Pablo Fernández Escámez - (Universidad Politécnica de Cartagena)

Carlos Alonso Calleja - (Universidad de León)
Houda Berrada Ramdani - (Universitat de València)
Irene Bretón Lesmes - (Hospital Gregorio Marañón de Madrid)
Carmen Cuadrado Hoyo - (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria)
Araceli Díaz Perales - (Universidad Politécnica de Madrid)
Carlos Manuel Franco Abuín - (Universidade de Santiago de Compostela)
Ángel Gil Izquierdo - (Consejo Superior de Investigaciones Científicas)
María José González Muñoz - (Universidad de Alcalá de Henares)
Isabel Hernando Hernando - (Universitat Politècnica de València)
Esther López García - (Universidad Autónoma de Madrid)
Sonia Marín Sillué - (Universitat de Lleida)
Francisco José Morales Navas - (Consejo Superior de Investigaciones Científicas)
Victoria Moreno Arribas - (Consejo Superior de Investigaciones Científicas)
Silvia Pichardo Sánchez - (Universidad de Sevilla)
María del Puy Portillo Baquedano - (Universidad del País Vasco)
María del Carmen Recio Iglesias - (Universitat de València)
Ana María Rivas Velasco - (Universidad de Granada)
Gloria Sánchez Moragas - (Consejo Superior de Investigaciones Científicas)
Antonio Valero Díaz - (Universidad de Córdoba)

Secretario técnico
Vicente Calderón Pascual

Coordinadores de la edición
Ricardo López Rodríguez
Paula Arrabal Durán

Edita
AESAN
Calle Alcalá, 56. 28071 Madrid
Correo electrónico: evaluacionriesgos@aesan.gob.es

Diseño y maquetación
Advantia Comunicación Gráfica
NIPO: 069-20-001-5
ISSN: 2695-4443

Índice

Prólogo 9

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre recomendaciones dietéticas sostenibles y recomendaciones de actividad física para la población española 11

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la seguridad del uso de dos soluciones acuosas de peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido peracético como coadyuvantes tecnológicos para la desinfección bacteriana del agua de lavado de ciruelas, cerezas y peras 71

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la evaluación del riesgo de la ingesta inadecuada de minerales (metales) antioxidantes en complementos alimenticios que puede dar lugar a efectos prooxidantes: cobre, manganeso, selenio y zinc 85

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la prospección de peligros químicos de interés en seguridad alimentaria en España (2) 113

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la prospección de peligros biológicos de interés en seguridad alimentaria en España (2) 161

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre el establecimiento de fecha de consumo preferente en carne congelada en establecimientos de comercio al por menor 209

Colaboración

Límites máximos de residuos y contaminantes en alimentos: bases de datos 237

Prólogo

En este año 2022 que termina se han cumplido 20 años de la publicación del Reglamento (CE) Nº 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. Este reglamento supuso el inicio de todo el desarrollo normativo que se produjo a continuación en materia de seguridad alimentaria, basado en buena medida en una evaluación de riesgos alimentarios, que es realizada a nivel de la Unión Europea por la EFSA, y a nivel nacional por el Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN).

A lo largo de estos años se han producido muchos avances y cambios que han situado a la seguridad alimentaria y a la nutrición como una de las prioridades en salud pública, al ser la alimentación uno de los determinantes de la misma. El abordaje de ambas materias ha de ser integral, basado en el principio de una sola salud que interrelaciona la salud humana, la sanidad animal y la salud del planeta, tal y como establece la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible, y la Estrategia global para la inocuidad de los alimentos 2022-2030 de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Y esto supone un esfuerzo de colaboración y un enfoque multidisciplinar en las políticas de salud emprendidas, para paliar el impacto actual del cambio climático tanto en la salud de la población, como en la sociedad y la economía, y las complejas previsiones para la próxima década, como lo son ya, por ejemplo, la aparición y aumento exponencial de la resistencia a los antimicrobianos, entre otros aspectos.

Asimismo, la Unión Europea está inmersa en la estrategia de la Granja a la Mesa, dentro del marco del Pacto verde europeo, lo que supone un giro en cuanto a la concepción de los sistemas alimentarios, entendidos como un todo que no afecta únicamente al alimento en sí, sino también a su producción, distribución y consumo.

Tanto España como en el resto de Europa, tenemos un sistema de control de la seguridad alimentaria, de los mejores del mundo, pero situaciones inesperadas como las que se están viviendo con relativa frecuencia a consecuencia del cambio climático o incluso de la situación bélica actual, ponen de manifiesto que el acceso a alimentos seguros y de calidad no siempre está garantizado, y no sólo es debido a sus precios.

Es por ello necesario un enfoque integral de la seguridad alimentaria incluyendo no sólo la inocuidad de los alimentos, sino también la accesibilidad a alimentos de calidad desde el punto de vista nutricional y sostenibles. En este sentido, el informe sobre recomendaciones dietéticas sostenibles y recomendaciones de actividad física para la población española, publicado en este número, concluye que la adopción de una dieta variada y equilibrada, caracterizada principalmente por un mayor predominio de alimentos de origen vegetal y una menor presencia de alimentos de origen animal, puede mejorar el estado de salud y bienestar, a la vez de reducir el impacto medioambiental. Este informe, que ha sido presentado por el Ministro de Consumo, Alberto Garzón, establece las bases de patrones dietéticos saludables, entendiendo que los nutrientes y los alimentos no se consumen de forma aislada, sino de forma combinada, actuando sinérgicamente en relación a la salud, enfatizando

la importancia de un patrón dietético saludable en su conjunto, en lugar de recomendaciones de consumo de nutrientes, alimentos o grupos de alimentos de forma aislada.

El Comité Científico de la AESAN es un órgano multidisciplinar y eso le permite abordar cada informe con puntos de vista procedentes de distintas áreas del conocimiento, lo cual supone un enriquecimiento considerable en la evaluación del riesgo.

En el ámbito de la seguridad alimentaria, en este número se incluyen dos informes que proponen la realización de estudios prospectivos de la presencia de peligros químicos y biológicos en alimentos comercializados en España, con el fin de conocer si pueden existir riesgos para los que aún no hay regulación a nivel nacional o de la Unión Europea.

Por otra parte, una de las principales funciones de los informes del Comité Científico es servir de referencia a la hora de tomar decisiones de gestión de riesgos alimentarios y, en este sentido, el informe sobre el establecimiento de fecha de consumo preferente en carne congelada en establecimientos de comercio al por menor nos permite establecer condiciones seguras para nuevas vías de comercialización de este producto.

Finalmente, uno de los informes publicados se refiere a la seguridad del uso de un coadyuvante tecnológico, cuestión que va a ser regulada próximamente a nivel nacional, y otro llama la atención sobre el riesgo de la ingesta inadecuada de minerales antioxidantes en complementos alimenticios, una cuestión relevante en un contexto en el que se comercializan muchos productos que alegan tener propiedades antioxidantes. Es importante generar conocimiento para que la persona consumidora sea consciente y tenga capacidad crítica a la hora de consumir los productos presentes en el mercado.

Todos estos informes dan cuenta del trabajo que día a día se realiza en este Comité Científico de cuya independencia depende que las decisiones tomadas en el marco de sus evaluaciones sean siempre a favor de la ciudadanía, y que las políticas puestas en marcha tengan una sólida base científica a la vez que objetiva.

Quede constancia aquí de nuestro agradecimiento al Comité Científico por su trabajo en pro de la salud de la ciudadanía, que realiza de forma independiente y con el más alto nivel de exigencia científica. Y que celebraremos en el año que entra su 20 aniversario como se merece.

Isabel Peña-Rey Lorenzo

Directora de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre recomendaciones dietéticas sostenibles y recomendaciones de actividad física para la población española

Número de referencia: AESAN-2022-007

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 27 de julio de 2022

Grupo de trabajo

Esther López García (Coordinadora), Irene Bretón Lesmes, Araceli Díaz Perales, Victoria Moreno Arribas, María del Puy Portillo Baquedano, Ana María Rivas Velasco, Ujué Fresán Salvo*, Laura Tejedor Romero*, Francisco Bartolomé Ortega Porcel, Susana Aznar Laín**, Enrique Lizalde Gil** y María Ángeles Carlos Chillerón (AESAN)**

Comité Científico

Carlos Alonso Calleja
Universidad de León

Carlos M. Franco Abuín
Universidade de Santiago de Compostela

Sonia Marín Sillué
Universitat de Lleida

Magdalena Rafecas Martínez
Universitat de Barcelona

Houda Berrada Ramdani
Universitat de València

Ángel Gil Izquierdo
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Francisco J. Morales Navas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

María del Carmen Recio Iglesias
Universitat de València

Irene Bretón Lesmes
Hospital Gregorio Marañón de Madrid

María José González Muñoz
Universidad de Alcalá de Henares

Victoria Moreno Arribas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Ana María Rivas Velasco
Universidad de Granada

Araceli Díaz Perales
Universidad Politécnica de Madrid

Isabel Hernando Hernando
Universitat Politècnica de València

Silvia Pichardo Sánchez
Universidad de Sevilla

Gloria Sánchez Moragas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Pablo Fernández Escámez
Universidad Politécnica de Cartagena

Esther López García
Universidad Autónoma de Madrid

María del Puy Portillo Baquedano
Universidad del País Vasco

Antonio Valero Díaz
Universidad de Córdoba

Secretario técnico
Vicente Calderón Pascual

Gestión técnica del informe AESAN:
M.Á. Carlos Chillerón

***Colaboradoras externas - recomendaciones dietéticas:** Ujué Fresán Salvo (Instituto de Salud Global de Barcelona) y Laura Tejedor Romero (Hospital Universitario de La Princesa)

****Colaboradores externos - actividad física:** Francisco Bartolomé Ortega Porcel (Universidad de Granada), Susana Aznar Laín (Universidad de Castilla-La Mancha) y Enrique Lizalde Gil (Agencia Estatal Comisión Española para la Lucha Antidopaje en el Deporte)

Resumen

Las recomendaciones dietéticas se elaboran a partir de la mejor evidencia científica disponible sobre el efecto de los nutrientes y alimentos en la salud. Estas recomendaciones tienen en cuenta que el efecto de los alimentos no sólo depende de su contenido nutricional sino también de la

matriz en la que se ingieren, de las alteraciones que se producen en el proceso culinario, la presencia de sustancias que no son nutrientes y de las sinergias que se producen entre combinaciones de alimentos. Además, la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible y los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de las Naciones Unidas (Moran, 2020) dejan claro que se debe llevar a cabo un cambio profundo en la forma de producir y consumir alimentos para aumentar la productividad y la sostenibilidad, al tiempo que se mejora la salud humana. Por otro lado, teniendo en cuenta que la Ley 17/2011, de 5 de julio, de Seguridad Alimentaria y Nutrición, en su artículo 36 [Estrategia de la nutrición, la actividad física y prevención de la obesidad (NAOS)], indica que se establecerán los objetivos nutricionales y de actividad física para la población y los de reducción de la prevalencia de obesidad, se ha considerado conveniente incluir en este informe una actualización de las recomendaciones de actividad física publicadas por la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en el año 2015 (AECOSAN, 2015), también alineadas con la sostenibilidad y el medio ambiente, de modo que se puedan alcanzar los ODS de 2030 (Moran, 2020) mediante la promoción de la actividad física y la reducción de los hábitos sedentarios.

Por todo lo anterior, y con la finalidad de establecer y poder trasladar a la población la información más completa y actualizada disponible sobre patrones dietéticos saludables y sostenibles y sobre la importancia de la actividad física, se ha solicitado al Comité Científico de la AESAN un nuevo informe que actualice, tanto las recomendaciones dietéticas para la población española, teniendo en cuenta el impacto ambiental de los alimentos, como las recomendaciones relativas a la actividad física.

El Comité Científico considera que la adopción, por parte de la población española, de un patrón de dieta variada y equilibrada, saludable y medioambientalmente sostenible puede mejorar su estado de salud y bienestar, a la vez que reducir el impacto medioambiental. Para ello, se recomienda consumir, al menos, 3 raciones/día de hortalizas; 2-3 raciones/día de frutas; un consumo moderado de patatas y otros tubérculos; 3-6 raciones/día de cereales, dependiendo de las necesidades energéticas de cada persona, y no más de 4 raciones/día si se necesita restringir la ingesta calórica, priorizando en todo caso los cereales de grano entero y productos integrales; al menos 4 raciones/semana de legumbres hasta llegar a un consumo diario; 3 o más raciones/semana de frutos secos, hasta un consumo de 1 ración diaria, eligiendo aquellos sin sal ni grasas ni azúcares añadidos; 3 o más raciones/semana de pescado, priorizando el pescado azul y las especies con menor impacto ambiental; hasta 4 huevos/semana; un consumo máximo de 3 raciones/día de lácteos, evitando aquellos con azúcares añadidos y con alto contenido en sal, aunque, debido a su elevado impacto ambiental, se sugiere reducir el número de raciones diarias de lácteos si se consumen otros alimentos de origen animal; un máximo de 3 raciones/semana de carne, priorizando el consumo de carne de aves y conejo y minimizando el consumo de carne procesada; un consumo diario de aceite de oliva en todas las comidas principales del día, tanto para el cocinado de los alimentos como para su aliño; y beber tanta agua como sea necesaria, considerándose ésta la bebida principal de una dieta saludable. Además, de manera complementaria a estas recomendaciones, se han incluido una serie de consideraciones generales y aspectos a tener en cuenta para una alimentación saludable y medioambientalmente sostenible.

Por último, en este informe también se recogen las recomendaciones de actividad física dirigidas a distintos grupos de población, según las diferentes etapas de la vida, considerando que la actividad física puede integrarse en el trabajo, las actividades deportivas y recreativas o en los desplazamientos, así como en las tareas cotidianas y domésticas, y que aumentar el número de pasos diarios es también una buena forma de mejorar la salud de todas las personas.

Palabras clave

Recomendaciones dietéticas, guías alimentarias, alimentos, sostenibilidad, impacto ambiental, actividad física, sedentarismo.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on sustainable dietary and physical activity recommendations for the Spanish population

Abstract

Dietary recommendations are developed from the best available scientific evidence on the effect of nutrients and food on health. These recommendations take into account that the effect of food depends not only on its nutritional content but also on the matrix in which is ingested, the alterations during the culinary process, the presence of non-nutrient substances, and the synergies that occur between food combinations. In addition, the 2030 Agenda for Sustainable Development and the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs) (Moran, 2020) make it clear that a profound change in the way food is produced and consumed must take place in order to increase productivity and sustainability while improving human health. On the other hand, taking into account that Law 17/2011, of July 5, on Food Security and Nutrition, in its article 36 [Strategy of nutrition, physical activity, and prevention of obesity (NAOS)], indicates that nutritional and physical activity targets for the population and those of reduction of the prevalence of obesity will be established, it has been considered appropriate to include in this report an update of the physical activity recommendations published by AESAN (Spanish Agency for Food Safety and Nutrition) in 2015 (AECOSAN, 2015), also aligned with sustainability and the environment, so that the 2030 SDGs can be achieved (Moran, 2020) by promoting physical activity and reducing sedentary behaviour.

In view of the above, and in order to establish and be able to provide the population with the most complete and updated information available on healthy and sustainable dietary patterns and on the importance of physical activity, the Scientific Committee of AESAN has been asked for a new report that updates both the dietary recommendations for the Spanish population, considering the environmental impact of food, as well as recommendations related to physical activity.

The Scientific Committee believes that the adoption by the Spanish population of a varied and balanced diet, healthy and sustainable, can improve their health and well-being, while reducing the environmental impact. To this end, it is recommended to consume at least 3 servings/day of vegetables; 2-3 servings/day of fruits; a moderate intake of potatoes and other tubers; 3-6 servings/

day of cereals, depending on the energy needs of each person, and not more than 4 servings/day if caloric intake needs to be restricted, prioritising in any case whole grain cereals and wholemeal products; at least 4 servings/week of legumes up to a daily consumption; 3 or more servings/week of nuts, up to a consumption of 1 daily serving, choosing those without added salt, fats or sugars; 3 or more servings/week of fish, prioritising blue fish and species with less environmental impact; up to 4 eggs/week; a maximum consumption of 3 servings/day of dairy products, avoiding those with added sugars and high salt content, although, due to their high environmental impact, it is suggested to reduce the number of daily servings of dairy products if other foods of animal origin are consumed; a maximum of 3 servings/week of meat, prioritising poultry and rabbit meat and minimising the consumption of processed meat; a daily consumption of olive oil, both for cooking and for seasoning, in all main meals; and drinking as much water as necessary, which is considered the primary beverage of a healthy diet. In addition to these recommendations, a number of general considerations and aspects to be taken into account for a sustainable healthy diet have been included.

Finally, this report also includes physical activity recommendations aimed at different population groups, according to the different stages of life, considering that physical activity can be integrated into work, sports and recreational activities or travel, as well as in daily and domestic chores, and that increasing the number of daily steps is also a good way to improve the health of all people.

Key words

Dietary recommendations, food guides, food, sustainability, environmental impact, physical activity, sedentary lifestyle.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo). López García, E., Bretón Lesmes, I., Díaz Perales, A., Moreno-Arribas, V., Portillo Baquedano, M.P., Rivas Velasco, A.M., Fresán Salvo, U., Tejedor Romero, L., Ortega Porcel, F.B., Aznar Laín, S., Lizalde Gil, E. y Carlos Chillerón, M.A. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre recomendaciones dietéticas sostenibles y recomendaciones de actividad física para la población española. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2022, 36, pp: 11-70.

1. Introducción

La Ley 17/2011, de 5 de julio, de Seguridad Alimentaria y Nutrición indica, en su artículo 36, apartado 2, que, en la Estrategia de la nutrición, la actividad física y prevención de la obesidad (NAOS), se establecerán los objetivos nutricionales y de actividad física para la población y los de reducción de la prevalencia de obesidad. Para ello, se establecen políticas de salud pública entre las que se incluye la elaboración de recomendaciones dietéticas o guías alimentarias, como instrumento clave para mejorar la dieta de la población, así como de recomendaciones de actividad física para la población general.

Las recomendaciones dietéticas se elaboran a partir de la mejor evidencia científica disponible sobre el efecto de los nutrientes y alimentos en la salud. Además, identifican hábitos alimentarios, usos y costumbres saludables en la población a la que se dirigen. Las guías alimentarias contienen orientaciones de cumplimiento relativamente sencillo y permiten trasladar las ingestas nutricionales vigentes en cada país a recomendaciones basadas en el consumo de alimentos. Estas recomendaciones tienen en cuenta que el efecto de los alimentos no sólo depende de su contenido nutricional sino también de la matriz en la que se ingieren, de las alteraciones que se producen en el proceso culinario, de la presencia de sustancias que no son nutrientes, y finalmente, de las sinergias que se producen entre combinaciones de alimentos. Para facilitar el seguimiento de las recomendaciones, las guías alimentarias pueden ir acompañadas de representaciones gráficas (icono, círculo, pirámide, plato), que sirven para resumir y escenificar de manera clara, fácil y didáctica el patrón alimentario recomendado. Del mismo modo, las guías de actividad física se han basado en la revisión y gradación de la evidencia científica realizada en el año 2020 por la OMS (Organización Mundial de la Salud) (OMS, 2020) y publicada en su versión en español en 2021 (OMS, 2021a) y aportan las recomendaciones sobre actividad física beneficiosa para la salud.

Además, la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible y los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de las Naciones Unidas (Moran, 2020) dejan claro que se debe hacer un cambio profundo en la forma de producir y consumir alimentos para aumentar la productividad y la sostenibilidad al tiempo que se mejora la salud humana. De hecho, conseguir un sistema alimentario sostenible puede encaminar hacia la consecución de todos los ODS, no solo los relacionados con la alimentación y el desarrollo social, sino también con los medioambientales. El sistema alimentario es uno de los sectores que más recursos naturales emplea y más contaminante es para el medioambiente: emite un tercio de los gases con efecto invernadero (responsables del cambio climático), es el sector que más agua consume y contamina, y es el principal responsable de la deforestación y pérdida de biodiversidad. Según un reciente informe del Ministerio de Consumo (Ministerio de Consumo/JRC, 2022), el consumo de alimentos es responsable de más de la mitad del impacto ambiental generado por una persona, dejando en evidencia la necesidad de seguir dietas con un menor impacto ambiental. Las recomendaciones dietéticas, por tanto, deben contemplar ambas dimensiones, salud humana y medioambiente.

En esta dirección, la Comisión EAT-Lancet (Willett et al., 2019) propuso la denominada "dieta de salud planetaria", en la que las recomendaciones dietéticas a favor de la salud humana se ven alineadas con la capacidad de la biosfera de sostener los principales procesos biofísicos que soportan

la vida en la Tierra. Se estima que una dieta con estas características podría evitar 11 millones de muertes a nivel mundial cada año, reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y preservar los recursos naturales y la biodiversidad. Por ello, cada vez son más los países que incorporan en sus recomendaciones dietéticas criterios de sostenibilidad ambiental. En España, en concreto, se ha estimado que la adherencia generalizada a una dieta saludable que incluya criterios de impacto ambiental, evitaría más de 80 000 muerte anuales y reduciría la emisión de gases con efecto invernadero, al menos, un 70 %; además, se reduciría entre un 25 y un 55 % el uso de diversos recursos naturales, como por ejemplo, el agua, el suelo, los nitratos y los fosfatos, con respecto a la dieta actual del promedio de la población española (Springmann et al., 2020). Por ello, se debe trabajar en la consecución de dietas saludables y medioambientalmente sostenibles en nuestro país.

Las recomendaciones de actividad física también tienen que estar alineadas con la sostenibilidad y el medio ambiente. De hecho, ya se reconoce la importancia de la actividad física en el cumplimiento de los ODS y, concretamente, la OMS afirma que la adopción de medidas y las inversiones en políticas que promueven la actividad física y reducen los hábitos sedentarios pueden ayudar a alcanzar los ODS de 2030 (Moran, 2020), en particular los siguientes: salud y bienestar (ODS3); educación de calidad (ODS4), ciudades y comunidades sostenibles (ODS11) y acción por el clima (ODS13), entre otros.

En resumen, las guías alimentarias y de actividad física tienen como objetivos:

- Promover unas pautas saludables y sostenibles de alimentación y actividad física.
- Prevenir las enfermedades no trasmisibles relacionadas con un patrón dietético no saludable y con una vida inactiva y sedentaria.
- Ayudar a las personas a mantener y/o mejorar la salud.
- Tomar en consideración la suma de nutrientes, la densidad calórica y la importancia de la variedad, como elemento también clave desde el punto de vista de la sostenibilidad.
- Establecer las cantidades recomendadas de actividad física en cada grupo de edad a lo largo de la vida.
- Reducir el consumo de nutrientes perjudiciales para la salud.
- Ayudar a las personas a adoptar estilos de vida más saludables.
- Establecer patrones dietéticos globales saludables, enfatizando la importancia del conjunto.
- Aportar una herramienta que contribuya a la divulgación de mensajes claros y sencillos a la población, como parte de una solución compleja y multifactorial para promover la salud y reducir riesgos derivados de la alimentación inadecuada, la falta de actividad física y del sedentarismo.

En este sentido, el Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) elaboró en 2020 un informe de revisión y actualización de las Recomendaciones Dietéticas para la población española (AESAN, 2020a) en el que, una vez revisadas y discutidas las guías alimentarias, basadas en alimentos disponibles internacionalmente, se establecieron recomendaciones de consumo de alimentos para la población española.

En esta ocasión se busca que las recomendaciones dietéticas no solo sean saludables, sino también sostenibles. Es decir, también deben considerar aspectos sociales, económicos y ambientales.

En los últimos años, esta última dimensión, el impacto ambiental de la alimentación, ha recibido gran atención por parte de la comunidad científica, como así se recoge, por ejemplo, en otras guías dietéticas (SENC-Aranceta-Bartrina et al., 2019) (Willett et al., 2019) (Serra-Majem et al., 2020), no así tanto las otras dimensiones, habiendo una vasta cantidad de publicaciones científicas sobre alimentación saludable y medioambientalmente sostenible. Además, la actividad física es una práctica muy relevante para mantener o alcanzar un buen estado de salud y reducir la incidencia del sobrepeso y la obesidad de la población, por lo que se ha considerado conveniente incluir en este informe la actualización de las recomendaciones de actividad física publicadas por la AESAN en el año 2015 (AECOSAN, 2015).

Con la finalidad de establecer y poder trasladar, tanto a la población general como a los operadores alimentarios, la información más completa y actualizada disponible sobre patrones dietéticos saludables y sostenibles, en forma de guías alimentarias, decálogo de recomendaciones saludables y representaciones gráficas, se ha solicitado al Comité Científico un nuevo informe que actualice las recomendaciones anteriores, que haga una revisión sobre el impacto ambiental de los alimentos y actualice también las recomendaciones relativas a la actividad física.

2. Actualización de Recomendaciones dietéticas

La dieta es un conjunto de exposiciones interrelacionadas, incluyendo la ingesta de macronutrientes, nutrientes esenciales y también la ingesta de aditivos, toxinas microbianas, contaminantes inorgánicos y compuestos químicos formados durante el cocinado o añadidos en el procesamiento de los alimentos (Willett, 2013). La asociación entre dieta y salud se puede examinar en diferentes niveles. Tradicionalmente, se ha estudiado el impacto de los componentes dietéticos en la salud, ya que la desnutrición y las carencias nutricionales representaban la principal carga de enfermedad en las poblaciones. Sin embargo, este paradigma ha cambiado en la mayoría de los países y lo que se observa actualmente es que las enfermedades crónicas no transmisibles son las responsables de la mayor parte de la mortalidad y morbilidad en estos países (GBD, 2018), hecho que se confirma también en España (Soriano et al., 2018). En concreto, en nuestro país, en el año 2020, el 24,3 % de las muertes se produjeron por enfermedades del sistema circulatorio y el 22 % por tumores (INE, 2021). Las enfermedades neurodegenerativas constituyen una causa de mortalidad de importancia creciente (GBD, 2018) (Soriano et al., 2018) y la obesidad aumenta el riesgo de estas enfermedades y la mortalidad. Los determinantes dietéticos de estas enfermedades son, mayoritariamente, consumos excesivos durante años de ciertos alimentos y nutrientes, que producen un efecto acumulativo en el organismo, alterando múltiples mecanismos biológicos hasta producir diferentes patologías crónicas.

Para elaborar unas guías alimentarias hay que tener en cuenta los siguientes principios: a) las personas eligen alimentos y no nutrientes a la hora de alimentarse, por lo que las recomendaciones deben estar basadas fundamentalmente en aconsejar o desaconsejar alimentos concretos; b) se pueden producir interacciones entre nutrientes que favorecen o dificultan su absorción, por lo que es de interés revisar la evidencia científica de alimentos completos y no sólo centrarse en el efecto de los nutrientes (Astrup et al., 2020); y c) existen sinergias en las diferentes combinaciones de alimentos

dentro de un patrón de dieta. Por todo ello, se considera prioritario identificar los patrones dietéticos saludables existentes en una población para poner en contexto las guías alimentarias y para favorecer que las personas puedan adherirse a éstas, como parte de su idiosincrasia (Tapsell et al., 2016).

Se entiende por dietas sostenibles aquellas que generan un impacto ambiental reducido y que contribuyen a la seguridad alimentaria y nutricional, y a que las generaciones actuales y futuras lleven una vida saludable; además, protegen y respetan la biodiversidad y los ecosistemas, son culturalmente aceptables, accesibles, económicamente justas y asequibles, nutricionalmente adecuadas, inocuas y saludables, y optimizan los recursos naturales y humanos (FAO, 2010). Estos patrones dietéticos se caracterizan por ser nutricionalmente equilibrados, con una alta ingesta de hortalizas, frutas, cereales integrales, legumbres y frutos secos, con un consumo reducido (si existe) de alimentos de origen animal y de productos con contenido elevado en azúcar o sal, dando prioridad al consumo de aceites vegetales insaturados frente a otras grasas dietéticas, siendo el desperdicio alimentario mínimo (FAO, 2019) (Willett et al., 2019), es decir, son patrones dietéticos basados, fundamentalmente, en alimentos de origen vegetal poco procesados, cuya composición varía en función de las tradiciones y la cultura propia de cada región. Además, los alimentos que los componen deben ser producidos a partir de técnicas respetuosas con el medioambiente y obtenidos de fuentes justas para todos los integrantes de la cadena alimentaria.

En España, existen patrones culturales de alimentación que han demostrado sus efectos beneficiosos para la salud, y además pueden considerarse sostenibles. El patrón de dieta mediterránea es el más conocido y estudiado. Enfatiza el consumo de alimentos de origen vegetal y pescado, junto con ingestas moderadas de carne y productos lácteos, y el uso del aceite de oliva como grasa principal para elaborar las preparaciones culinarias. Se ha asociado a menor riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular y factores de riesgo cardiometabólicos, cáncer, diabetes, enfermedades neurodegenerativas y mortalidad prematura (Dinu et al., 2018). La dieta mediterránea se ha asociado con un envejecimiento saludable (Ortolá et al., 2019). Dos rigurosos ensayos clínicos han demostrado también la eficacia de esta dieta en la prevención primaria y secundaria de la enfermedad cardiovascular (Estruch et al., 2018) (Delgado-Lista et al., 2022). Por otro lado, diversos estudios señalan que la adherencia a la dieta mediterránea en nuestro entorno podría disminuir el impacto ambiental de la alimentación, reduciendo las emisiones de gases de efecto invernadero, así como el uso de recursos naturales (Sáez-Almendros et al., 2013) (Fresán et al., 2018). El patrón de dieta atlántica es menos conocido. Es un patrón tradicional propio del noroeste de España y norte de Portugal, que se caracteriza por un consumo elevado de pescado, lácteos, hortalizas, patatas, pan hecho de cereales enteros, un consumo moderado de ternera y productos derivados del cerdo, y consumo de grasas de origen vegetal, con preferencia por el aceite de oliva (Lorenzo et al., 2022). Este patrón se ha asociado a menor riesgo de mortalidad por todas las causas (Carballo-Casla et al., 2021), aunque las evidencias sobre sus efectos beneficiosos para la salud aún se siguen estudiando. Su impacto ambiental parece ser ligeramente superior al de la dieta mediterránea (González-García et al., 2020). Dado que el patrón de dieta mediterránea es mayoritario en la población española y la evidencia científica que sustenta su efecto beneficioso para la salud es muy sólida, las recomendaciones dietéticas españolas contenidas en estas guías alimentarias se circunscriben en el contexto de este patrón cultural de alimentación,

aunque se consideran las recetas tradicionales del patrón de dieta atlántica.

Para la elaboración de estas guías alimentarias se han seguido las sugerencias propuestas por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2010). Así, se proporcionan recomendaciones para los diferentes grupos de alimentos dentro del marco de un patrón de dieta mediterránea. Estas recomendaciones están basadas en la revisión de la evidencia científica más reciente, mayoritariamente a partir de 2019, ya que la publicación de las *Dietary Guidelines for Americans* (DGA, 2020), guías dietéticas de Estados Unidos, presentaba una revisión exhaustiva del conocimiento científico hasta el momento de su publicación, en el año 2020. Además, se indican cuáles son las recomendaciones propuestas por las DGA 2020-2025 para cada grupo de alimentos, junto con las recomendaciones de la Comisión EAT-Lancet, para una dieta saludable dentro de los límites planetarios (Willett et al., 2019), entre otras. También se incluye un apartado de consideraciones generales, en el que se proporcionan consejos adicionales para seguir una dieta saludable y medioambientalmente sostenible.

Estas guías alimentarias están dirigidas a la población general, aunque se han tenido en cuenta las necesidades específicas de las personas mayores (Fried y Rowe, 2020), un segmento de edad que representa, aproximadamente, el 20 % del total de la población española (INE, 2020), y que se espera que siga aumentando en los próximos años (Kontis et al., 2017). También se ha tenido en cuenta que más de la mitad de la población española presenta exceso de peso (AESAN, 2019a), por lo que se incluyen indicaciones para las situaciones en las que se necesita reducir la ingesta calórica, que están en línea con las propuestas de la OMS (2022).

Los grupos de alimentos considerados en esta guía son los siguientes:

- Hortalizas y frutas.
- Patatas y otros tubérculos.
- Cereales.
- Fuentes de proteínas vegetales y animales.
- Aceite de oliva como grasa de elección para la preparación culinaria de los alimentos.
- Agua como bebida de elección.

2.1 Hortalizas y frutas

Las hortalizas y las frutas son alimentos ricos en fibra, vitaminas y minerales esenciales, así como en hidratos de carbono de bajo índice glucémico. Las hortalizas aportan un 80 % de agua, un alto contenido en hidratos de carbono, fibra, azúcares o almidones, pequeñas cantidades de proteínas y menor contenido aún de grasas, y son fuente de un amplio número de minerales y vitaminas C y A. Las frutas son ricas en vitaminas C, A, B2, tiamina, niacina, azúcares, hierro, calcio, y aportan bajas cantidades de proteínas y calorías (Colditz, 2022).

La revisión de la evidencia científica más reciente, que se resume a continuación, indica que el aumento de la ingesta de hortalizas y frutas frescas se asocia con un menor riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2, algunos tipos de cáncer como el de mama, y también con menor riesgo de mortalidad prematura.

En el caso de las enfermedades cardiovasculares, existe mucha evidencia sobre la protección que supone el consumo de frutas frescas y hortalizas frente a estas enfermedades. Aune et al.

(2017) en un metaanálisis de 95 estudios observaron reducciones del riesgo de enfermedades cardiovasculares y de mortalidad por todas las causas, hasta una ingesta de 800 g/día de hortalizas y/o frutas. Específicamente, se observaron asociaciones inversas entre la ingesta de manzanas/peras, cítricos, hortalizas de hoja verde/ensaladas y hortalizas crucíferas (coliflor, brócoli, col) y las enfermedades cardiovasculares, y entre las hortalizas de hoja verde y las hortalizas crucíferas y el riesgo de cáncer. En otra revisión sistemática y metaanálisis de 81 cohortes, Zurbau et al. (2020) también concluyeron que las hortalizas y frutas se asociaban con un efecto beneficioso en la salud, previniendo el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Wallace et al. (2020) realizaron una revisión de ensayos clínicos y estudios observacionales, y concluyeron que la evidencia científica que recomienda incrementar el consumo de hortalizas y frutas para la prevención de la enfermedad cardiovascular es fuerte. Los mayores resultados en la salud cardiovascular se obtuvieron con un efecto umbral no lineal con consumos de 800 g por día, es decir, alrededor de 5 porciones diarias. Las mayores asociaciones con beneficio cardiovascular se observaron con el consumo de cítricos, ajos, zanahorias, hortalizas crucíferas, hortalizas de hoja verde oscura y las bayas de color oscuro.

En el caso de la prevención del cáncer, en la revisión de Buja et al. (2020) concluyeron que las hortalizas se asociaban con menor riesgo de cáncer de mama. Algunos nutrientes, como folatos, lignanos y carotenoides presentes en alimentos vegetales se identificaron como responsables de la asociación observada. Además, Farvid et al. (2021) sugirieron que una alta ingesta de hortalizas y frutas estaba asociada con un riesgo reducido de cáncer de mama postmenopáusico.

En la revisión sistemática y metaanálisis de estudios prospectivos de Schwingshackl et al. (2017a) se observó una asociación dosis-respuesta no lineal entre el consumo de hortalizas y frutas, y el riesgo de diabetes tipo 2. Se observó que había una disminución del riesgo de un 9 % con un consumo de 300 g/día de hortalizas de hoja verde (por encima del mismo no se apreció ningún beneficio). Asimismo, el riesgo de esta patología disminuyó en un 10 % con el aumento de la ingesta de frutas hasta 200-300 g/día. Estos resultados se completan con la publicación de Zheng et al. (2020), donde se observó una asociación inversa entre biomarcadores plasmáticos de ingesta de hortalizas y frutas, y la incidencia de diabetes tipo 2 en diferentes países europeos.

En la revisión de Wang et al. (2021a) también concluyeron que existían asociaciones inversas no lineales de la ingesta de hortalizas y frutas con la mortalidad total y la mortalidad por causa específica atribuible al cáncer, las enfermedades cardiovasculares y las enfermedades respiratorias. La ingesta de 5 raciones al día de hortalizas y frutas, o 2 raciones de fruta y 3 de hortalizas, se asoció con la menor mortalidad, y por encima de ese nivel, una mayor ingesta no se asoció con una reducción adicional del riesgo. En comparación con el nivel de referencia (2 raciones/día), la ingesta diaria de 5 raciones de hortalizas y frutas se asoció con estimadores de riesgo (IC del 95 %) de 0,87 (0,85-0,90) para la mortalidad total; 0,88 (0,83-0,94) para la mortalidad por enfermedades cardiovasculares; 0,90 (0,86-0,95) para la mortalidad por cáncer y 0,65 (0,59-0,72) para la mortalidad por enfermedades respiratorias. Una mayor ingesta de la mayoría de los subgrupos de hortalizas y frutas se asoció a una menor mortalidad, con la excepción de las hortalizas con almidón, como el maíz.

En una revisión sistemática, Głąbska et al. (2020) concluyeron que las hortalizas y frutas, y en concreto algunos subgrupos específicos como las bayas, cítricos y hortalizas de hoja verde, tenían

una influencia positiva sobre la salud mental, reafirmando la recomendación de consumir, al menos, 5 raciones de frutas y hortalizas al día.

Por otro lado, existe mucha evidencia de la relación entre la ingesta de azúcares libres/añadidos y el riesgo de enfermedades metabólicas. En su último informe, la EFSA (2022) incluye que, en los zumos de frutas y hortalizas y los concentrados de zumo, "azúcares libres" son aquellos presentes naturalmente. El informe concluye que la ingesta de estos azúcares debe ser lo más baja posible en el contexto de una dieta adecuada para disminuir la ingesta de azúcares totales. Por ello, el consumo de zumos de frutas no debe ser un sustituto de las frutas enteras.

Diversos estudios indican que el impacto ambiental de las hortalizas y frutas es bajo (Poore y Nemecek, 2018) (Clark et al., 2019) (Aguilera et al., 2020). El uso de invernaderos para la producción de hortalizas y frutas incrementa la emisión de gases de efecto invernadero por cantidad de producto obtenido, en comparación con su producción en campo abierto, sobre todo si los invernaderos requieren energía para ser calentados (Clark y Tilman, 2017) (Clune et al., 2017). Otros trabajos apuntan a que el uso de suelo y de agua por kg de producto podría verse disminuido mediante el uso de invernaderos, al tener una mayor productividad (Clark y Tilman, 2017) (Springmann, 2019). No obstante, son necesarios más estudios para confirmar estas diferencias en otros indicadores ambientales distintos a la emisión de gases con efecto invernadero.

A pesar de la gran importancia que tienen las hortalizas y las frutas en las dietas saludables con bajo impacto ambiental, estos alimentos, junto con los cereales, son los que más desperdicio generan en el sistema alimentario a nivel mundial (FAO, 2013). En este sector, se desperdicia mucho producto por defectos estéticos (tamaño, forma, color) al no responder a los estándares de calidad impuestos por el mercado, lo que hace que en algunos casos no sean recolectados por su escaso valor (FAO, 2011), o que se descarten una vez llegan a los comercios. Sin embargo, los productos con defectos estéticos son igual de saludables que los que son estéticamente perfectos.

Dentro de las recomendaciones nutricionales para una alimentación saludable, ninguna es tan firme y aceptada como la de promover un elevado consumo de hortalizas y frutas. La OMS recomienda como objetivo poblacional la ingesta de un mínimo de 400 g diarios de hortalizas y frutas (OMS/FAO, 2003) (FAO, 2020a). Sin embargo, el consumo de hortalizas y frutas por parte de la población española está por debajo de estas recomendaciones, como se ha puesto de manifiesto en las diferentes encuestas nutricionales y en las encuestas nacionales de salud (AESAN, 2021a, b).

Las DGA 2020-2025 (DGA, 2020) indican que se deben consumir todo tipo de hortalizas y frutas, especialmente enteras. En una dieta de una ingesta de 2000 kcal para la población general, se recomienda el consumo diario de una cantidad equivalente a 2 raciones y media de hortalizas en general, y el consumo del equivalente a 2 raciones diarias de fruta. En la infografía que han desarrollado para trasladar estas recomendaciones a la población general, se indica que en cada ocasión de ingesta ("plato de comida"), las hortalizas y las frutas deben ocupar la mitad de la cantidad de alimentos ingeridos, con una mayor proporción de hortalizas que de frutas. De manera similar, la Comisión EAT-Lancet sugiere, al menos, el consumo de 300 g de hortalizas (100 g de hortalizas verde oscuro, 100 g de hortalizas rojas y naranjas y 100 g de otras hortalizas) y 200 g de frutas (Willett et al., 2019). La pirámide de dieta mediterránea sostenible (Serra-Majem et al., 2020) recomienda,

en las principales comidas del día, un consumo diario de 1-2 porciones de frutas por comida y, un mínimo de 2 porciones de hortalizas, al menos, en una de las principales comidas del día; consumir una variedad de colores y texturas de estos productos, tanto crudos como cocinados y se indica además que debe darse preferencia a las frutas y hortalizas frescas, de temporada y mínimamente procesadas. Las anteriores guías alimentarias de la AESAN (2020a) sugerían un consumo de 2 a 4 raciones al día de hortalizas y de 3 a 5 raciones al día de frutas.

De acuerdo con la revisión hecha, parece aconsejable mantener la recomendación de consumo de hortalizas y frutas de, al menos, 5 raciones al día, y específicamente, al menos, 3 raciones de hortalizas al día, y 2-3 raciones de frutas al día, considerando que el consumo de zumos de frutas no es un sustituto de la fruta entera.

2.2 Patatas y otros tubérculos

Las raíces y tubérculos amiláceos como la patata y sus derivados contienen, fundamentalmente, hidratos de carbono complejos, con tres o más azúcares unidos, conocidos como oligosacáridos y polisacáridos, como el almidón. Además, las patatas contienen un 2 % de proteína, de calidad razonablemente buena; también contienen, aproximadamente, 15 mg de vitamina C por 100 g, aunque esta cantidad se reduce durante el almacenamiento y en los procesos culinarios, así como pequeñas cantidades de vitaminas B y minerales. Sin embargo, el contenido en fibra de este alimento es bajo (FAO, 2002).

Es importante separar las patatas y otros tubérculos amiláceos del grupo de hortalizas y frutas debido a las diferentes propiedades nutricionales que poseen. Este tipo de alimentos presenta un índice glucémico alto, es decir, se digieren rápidamente y provocan importantes fluctuaciones del azúcar en sangre. El consumo de muchos alimentos de alto índice glucémico puede aumentar el riesgo de padecer diabetes tipo 2, obesidad y enfermedades cardiovasculares (Beulens et al., 2007).

Desde el punto de vista del impacto ambiental, las patatas son unos de los alimentos con menor impacto (Poore y Nemecek, 2018) (Clark et al., 2019) (Aguilera et al., 2020).

Las DGA 2020-2025 (DGA, 2020) incluyen a las patatas dentro del grupo de hortalizas con almidón junto con la yuca, el maíz, los frijoles, los guisantes inmaduros o los crudos (no secos) y el plátano macho. Las recomendaciones semanales se sitúan en 4 a 8 raciones, en función de las calorías de la dieta (5 raciones semanales para una dieta de 2000 kcal). La Comisión EAT-Lancet (Willett et al., 2019) contempla los tubérculos dentro del grupo de fuentes de hidratos de carbono, junto con los cereales, indicando que estos últimos son preferibles. Se recomienda que el consumo de patatas no supere los 100 g al día.

Aunque el consumo de patatas y tubérculos no se incluye en las definiciones de dieta mediterránea que se utilizan habitualmente en estudios poblacionales y en la práctica clínica (Schröder et al., 2011), las patatas son uno de los alimentos característicos de la dieta atlántica y forman parte de multitud de platos tradicionales en preparaciones culinarias en el noroeste de nuestro país. Sin embargo, dado que otros grupos de alimentos son capaces de proporcionar hidratos de carbono con menor índice glucémico, de digestión más lenta, como son los cereales enteros y las legumbres, parece aconsejable alternar el consumo de patatas y tubérculos con el consumo de cereales enteros y legumbres,

como fuentes principales de hidratos de carbono en la dieta. Se recomienda un consumo moderado de patatas y tubérculos, formando parte de recetas tradicionales de nuestro país.

2.3 Cereales

Los cereales de grano entero y productos derivados, en combinación con otros alimentos ricos en hidratos de carbono complejos como las legumbres, y junto con las hortalizas y las frutas, son la base de una alimentación adecuada y constituyen una importante fuente de energía. Los cereales más importantes en nuestra alimentación son el trigo, el maíz, el arroz, la avena y el centeno. Con ellos se pueden elaborar alimentos como el pan o las pastas que, si provienen de granos enteros, se denominan productos integrales. Los cereales de grano entero, con salvado, germen y endospermo, son ricos en vitaminas del grupo B, vitamina E, minerales (hierro, zinc, magnesio), proteínas, grasas insaturadas y fitoquímicos (polifenoles y alcaloides). Además, la ingesta de cereales de grano entero proporciona mayor contenido en fibra, que impide la rápida absorción de los hidratos de carbono, lo que clasifica a estos alimentos como de bajo índice glucémico. Por el contrario, los cereales refinados, al estar formados solo del endospermo del grano, tienen una composición nutricional mayoritaria de hidratos de carbono de digestión rápida.

En general, los cereales enteros ejercen efectos positivos a través de varios mecanismos de acción: 1) regulando el metabolismo de la glucosa y el metabolismo lipídico; 2) disminuyendo los procesos inflamatorios y de disfunción endotelial; 3) restaurando la diversidad del microbiota intestinal y aumentando los ácidos grasos de cadena corta intestinales; y 4) actuando sobre vías regulatorias asociadas a procesos cancerosos (HSPH, 2022a).

La evidencia científica más reciente apoya el efecto beneficioso del consumo de cereales de grano entero, que disminuye el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2, cáncer y mortalidad prematura. Los resultados de un estudio poblacional reciente muestran que, después de 18 años de seguimiento, la sustitución de cereales refinados por enteros en la dieta habitual se asociaba con una atenuación de la adiposidad abdominal, la dislipidemia y la hiperglucemia, reduciendo así el riesgo de enfermedades cardiometabólicas (Sawicki et al., 2021). Estos resultados son consistentes con un ensayo clínico realizado en un grupo de personas con riesgo de desarrollar síndrome metabólico. Una intervención dietética con un consumo de cereales enteros no alteraba la sensibilidad a la insulina ni el microbioma intestinal, pero reducía el peso corporal y la inflamación sistémica de bajo grado (Roager et al., 2019).

Un mayor consumo de cereales enteros se ha asociado con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular en estudios poblacionales recientes (Capurso, 2021) (Hu et al., 2022). En el estudio de cohortes prospectivo PURE, realizado en 21 países y que incluyó a más de 130 000 participantes con una mediana de seguimiento de 9,5 años, se examinó la asociación de la ingesta de cereales refinados, cereales integrales y arroz blanco con la enfermedad cardiovascular, la mortalidad total, los lípidos en sangre y la presión arterial. La categoría más alta de ingesta de cereales refinados (≥350 g/día o unas 7 raciones/día) se asoció con un mayor riesgo de mortalidad total y de desarrollar eventos de enfermedad cardiovascular grave, en comparación con la categoría más baja de ingesta (<50 g/día). Una mayor ingesta de cereales refinados se asoció también a una mayor pre-

sión arterial sistólica. No se encontraron asociaciones significativas entre el consumo de cereales integrales o arroz blanco y las enfermedades estudiadas (Swaminathan et al., 2021).

En la evaluación realizada de varios estudios prospectivos de grandes cohortes, con el objetivo de examinar las asociaciones entre la ingesta de alimentos elaborados con granos enteros y el riesgo de diabetes tipo 2, se encontró que un mayor consumo de cereales enteros y de alimentos integrales, incluyendo los cereales para el desayuno, la avena, el pan negro, el arroz, el salvado y el germen de trigo, se asoció significativamente con un menor riesgo de diabetes tipo 2, en comparación con el consumo más bajo, recomendando, por ello, el consumo de cereales integrales para prevenir esta patología (Hu et al., 2020). Sin embargo, una revisión reciente (Gaesser, 2022), que examina la literatura científica en relación con la ingesta de cereales refinados, cuestiona estos resultados, sugiriendo que estas conclusiones pueden deberse a que algunos tipos de cereales refinados se utilizan para elaborar alimentos con alto contenido en azúcares y grasas (pasteles, galletas), y que además se consumen en patrones de dieta junto con alimentos poco saludables como la carne procesada o las bebidas azucaradas. Indican que otros productos elaborados con cereales refinados, como el pan, cereales de desayuno, la pasta y el arroz no se han asociado con un incremento en el riesgo de diabetes, excepto el arroz consumido en cantidades muy elevadas, en poblaciones de Asia.

También se ha publicado recientemente una revisión sistemática, con inclusión de estudios prospectivos y ensayos clínicos, para examinar los efectos de la ingesta de fibra en el control glucémico y progresión de la enfermedad en pacientes diabéticos. Los resultados indicaron que, en estudios poblacionales, una mayor ingesta de fibra se asociaba con menor mortalidad por todas las causas y por enfermedad cardiovascular, con una relación dosis-respuesta. En ensayos clínicos se observó que la ingesta de fibra mejoraba el control glucémico, el perfil lipídico y otros parámetros de riesgo cardiometabólico cuando se comparaba con dietas con bajo contenido en fibra, en personas adultas con prediabetes, diabetes tipo 1 o diabetes tipo 2. Estos beneficios no se limitaron a ningún tipo de fibra y fueron evidentes en todos los niveles de ingesta, aunque se observaron mayores mejoras en el control glucémico para aquellos participantes que pasaron de ingestas bajas a moderadas o altas (Reynolds et al., 2020).

En cuanto a la relación entre el consumo de cereales y el riesgo de cáncer, algunas evidencias sugieren que la ingesta de cereales con alto contenido en fibra está asociada con un menor riesgo de cáncer total y gástrico. En cambio, la relación entre el consumo de cereales refinados y el riesgo de cáncer no es concluyente (Gaesser, 2020) (Wang et al., 2020).

En términos generales, el impacto ambiental de los cereales es bajo. De entre todos ellos, el arroz es el que tiene un mayor impacto, por sus elevadas emisiones de gases de efecto invernadero (Poore y Nemecek, 2018) (Aguilera et al., 2020). Lo que diferencia al arroz de otros cereales es su especial forma de cultivo, que requiere campos inundados, donde la descomposición de la materia orgánica se produce en situación de hipoxia, emitiendo metano, un gas con un potencial de calentamiento global muy superior al del CO_2. Un estudio nacional apunta que las emisiones de gases de efecto invernadero derivadas de la producción de 1 kg de arroz sería 4 veces superiores a las derivadas de la producción de la misma cantidad de trigo, e incluso 12 veces mayores si se compara con la patata (Aguilera et al., 2020). No obstante, la huella de carbono del arroz, a pesar de ser mayor que la de otros cereales, se

puede considerar moderada, siendo similar o inferior a la de alimentos como el huevo, y notablemente menor que la de los distintos tipos de carne (Poore y Nemecek, 2018).

Actualmente la población mundial se alimenta principalmente de tan solo tres tipos de cereales: trigo, arroz y maíz. La producción de estos tres cultivos es altamente vulnerable en el contexto de cambio climático y su calidad nutricional se ve mermada ante altas concentraciones de CO_2 atmosférico, disminuyendo su contenido proteico y de minerales (Ben Mariem et al., 2021). Se ha señalado que el restablecimiento de la producción de cereales y pseudocereales ancestrales, como el sorgo, mijo, trigo espelta o trigo sarraceno, así como de nuevas variedades más resistentes, podría ser una buena medida de adaptación al cambio climático, ya que estos cultivos han demostrado tolerancia a diversos factores de estrés como la sequía y el calor, a la vez que se aumenta la biodiversidad (Cheng, 2018) (Ben Mariem et al., 2021).

El consumo de cereales se recomienda en la mayoría de las guías alimentarias internacionales como uno de los grupos de alimentos que debe ser consumido en mayores cantidades y, preferiblemente, como cereales de grano entero. Las DGA 2020-2025 (DGA, 2020), para una dieta en torno a las 2000 kcal, sugieren un consumo de 6 raciones diarias de cereales, de las que, al menos, 3 serían de grano entero. La Comisión EAT-Lancet (Willett et al., 2019) indica que la cantidad de hidratos de carbono que se deben consumir depende de las necesidades individuales de cada persona, no superando más del 60 % de las calorías ingeridas. En las guías alimentarias españolas publicadas por la AESAN en el año 2020 (AESAN, 2020a), se recomienda un consumo de 4 a 6 raciones al día, eligiendo preferentemente cereales integrales. La pirámide de dieta mediterránea sostenible (Serra-Majem et al., 2020) propone un consumo de 3 a 6 raciones diarias, recomendando el consumo de pan, pasta, arroz, cuscús o bulgur, preferentemente integrales; el consumo de alimentos como bollería queda relegado a un consumo esporádico. Además, en la dieta mediterránea tradicional, el consumo de arroz forma parte de la preparación de recetas culinarias ampliamente consumidas por la población. El consumo de pan acompañando las comidas principales es una costumbre fuertemente arraigada en nuestro país.

Dado que la evidencia científica actual muestra mayoritariamente un efecto beneficioso en la salud al sustituir los cereales refinados por cereales de grano entero y productos integrales, en estas guías alimentarias se aconseja priorizar los cereales enteros y productos integrales, minimizando el consumo de alimentos elaborados con harinas refinadas. Se sugiere un consumo de 3 a 6 raciones al día, dependiendo de las necesidades energéticas, y no más de 4 raciones si se necesita restringir la ingesta calórica. Algunas de estas raciones pueden ser sustituidas por el consumo de legumbres, para completar la ingesta de hidratos de carbono.

2.4 Fuentes de proteínas

El consumo diario de alimentos ricos en proteínas es esencial para el mantenimiento de la masa y fuerza muscular y la función física (Mangano et al., 2017). Los requerimientos nutricionales de ingesta proteica varían en función de la edad, sexo, nivel de actividad física y situaciones fisiológicas demandantes, como es el embarazo. Los requerimientos promedio de ingesta proteica (*recommended dietary allowance*) se sitúan en 0,83 g/kg peso corporal/día para población adulta, incrementándose esta cantidad para menores de 18 años y mujeres embarazadas (EFSA, 2017). En personas mayores, la evi-

dencia científica sugiere que se necesita una ingesta mayor de este valor para evitar la desnutrición y el desarrollo de sarcopenia (Baueret al., 2013) (Cruz-Jentoff et al., 2020). Las fuentes de proteínas de origen vegetal en la dieta son las legumbres, los frutos secos, los cereales integrales y los alimentos elaborados con soja. Las fuentes de proteínas de origen animal incluyen el pescado, los huevos, la leche y productos lácteos, y la carne. Las proteínas de los diferentes grupos de alimentos varían en cuanto a su perfil de aminoácidos y su digestibilidad. Así, se considera que las proteínas de fuentes de origen animal son de elevada calidad, por su alto contenido en aminoácidos esenciales y su digestión y absorción rápidas. Las proteínas de origen vegetal también pueden ser de elevada calidad, como es el caso de algunas legumbres como los garbanzos, algunas alubias blancas y la soja, aunque no es así para la mayoría de las legumbres y otras fuentes de proteínas vegetales. Esta limitación se puede solventar con combinaciones de diferentes fuentes proteicas vegetales complementarias en aminoácidos. Por otro lado, el consumo de alimentos proteicos conlleva a su vez la ingesta de otros nutrientes, que pueden determinar sus efectos globales en la salud. Se ha observado que el consumo de alimentos proteicos de origen vegetal, en sustitución de alimentos proteicos de origen animal, se asocia con menor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (Bernstein et al., 2010, 2012) y con menor riesgo de desarrollar fragilidad, deterioro cognitivo o mortalidad prematura (Huang et al., 2020) (Struijk et al., 2022a, b) (Yeh et al., 2022). Asimismo, las distintas fuentes de proteínas de origen animal han mostrado diferencias en cuanto a su efecto en la salud, independientemente de la cantidad consumida. Más adelante, en cada apartado se revisa la evidencia científica específica de los diferentes alimentos.

Hay unanimidad científica en que el impacto en el medioambiente de los alimentos proteicos de origen animal es mayor que el de los de origen vegetal. Esta evidencia se ha visto no solo comparando por cantidad de producto, sino también al evaluar por raciones, energía e incluso cantidad de proteína obtenida (Poore y Nemecek, 2018) (Clark et al., 2020). Se ha observado que cuanto menor es el consumo de alimentos de origen animal en la dieta, menor es su impacto en el medioambiente (Aleksandrowicz et al., 2019). De hecho, el Panel de Expertos de las Naciones Unidas para el Estudio del Cambio Climático (IPCC) señala que la adherencia de la población a dietas altas en proteínas de origen vegetal y bajas en carnes y lácteos es una de las medidas para mitigar el cambio climático (IPCC, 2022). Además, la adopción de dietas basadas en plantas también reduciría el uso y la contaminación de recursos naturales como el agua y el suelo (Springmann et al., 2018). Si bien es cierto que las dietas vegetarianas han demostrado ser las que tienen un menor impacto en el medioambiente, un consumo moderado de proteínas de origen animal es compatible con una dieta dentro de los límites planetarios. La dieta mediterránea puede considerarse un patrón dietético basado en el consumo principal de proteínas de origen vegetal (legumbres y frutos secos), que también incluye un consumo moderado de fuentes de proteínas de origen animal como pescado, huevos, lácteos y carne, mayoritariamente de ave y conejo.

2.4.1 Fuentes de proteínas vegetales

2.4.1.1 Legumbres

Las legumbres son la fuente principal de proteínas de origen vegetal en la dieta. Además, aportan hidratos de carbono de digestión lenta, vitaminas (vitamina K y vitaminas del grupo B), minerales

(calcio, magnesio, zinc, hierro, potasio), sustancias fitoquímicas, un alto contenido en fibra e hidratos de carbono no digeribles y almidón resistente. En este grupo se incluyen las lentejas, los garbanzos, los guisantes y las alubias. El consumo de legumbres forma parte de los hábitos alimentarios de España, y se incluyen en multitud de recetas tradicionales de nuestra cocina.

El consumo habitual de legumbres se ha asociado con menor riesgo de desarrollar enfermedades crónicas, en concreto, enfermedad cardiovascular (Bazzano et al., 2001) (Afshin et al., 2014); con evidencia menos sólida para el cáncer colorrectal (Canani et al., 2011); diabetes tipo 2 (Villegas et al., 2008) y obesidad (Papanikolaou y Fulgoni, 2008). La evidencia reciente confirma estos resultados.

Cuando se han examinado los efectos de las legumbres sobre factores de riesgo cardiometabólico, se ha encontrado un efecto beneficioso, que corrobora la asociación encontrada para las enfermedades cardiovasculares. Así, una revisión de la literatura ha evidenciado que el consumo diario de 150 g de legumbres (como media de los 20 ensayos clínicos revisados), se asociaba con mejoría del perfil lipídico, la presión arterial y la composición corporal, y con una disminución de las concentraciones de marcadores inflamatorios en sangre (Ferreira et al., 2021). Otra revisión que incluía ensayos clínicos y estudios observacionales también concluía que las legumbres mejoraban el perfil lipídico, el control glucémico y la presión arterial (Lukus et al., 2020). Además, una revisión centrada únicamente en el efecto de las legumbres en el control de la glucemia cuantificaba que un consumo de 110 g de legumbres al día se asociaba con una reducción de un 20 % de los niveles plasmáticos de glucosa postprandial (Clarke et al., 2022). En una revisión sistemática de 18 ensayos clínicos realizados en participantes sanos o con diabetes, el consumo de legumbres mejoraba la respuesta glucémica sólo en los estudios realizados en pacientes diabéticos (Bielefeld et al., 2020). Los autores atribuían la falta de asociación en individuos sanos a la existencia de factores de confusión, como el uso de medicamentos, a las diferencias en los grupos de participantes entre los estudios y a las variaciones en los protocolos de los ensayos comparados.

Los resultados de los estudios observacionales son menos concluyentes. Un primer metaanálisis con 28 estudios de cohortes realizados hasta el año 2019, concluyó que la evidencia que asociaba el consumo de legumbres con menor riesgo cardiovascular era de bajo nivel de certeza, y que la evidencia específicamente para la enfermedad coronaria, hipertensión arterial y obesidad era de muy bajo nivel (Viguiliouk et al., 2019). En un metaanálisis más reciente, que incluía 4 estudios transversales, 2 estudios de cohortes y 11 estudios de casos y controles, los autores concluyeron que el consumo de legumbres no se asoció con menor riesgo de desarrollar síndrome metabólico. Los autores lo atribuyeron a diversas causas: la diferente manera de medir el consumo de legumbres entre estudios y los diferentes modos de ajustar por factores de confusión (Jiang et al., 2020). Además, un metaanálisis de 27 estudios poblacionales en diferentes regiones del mundo encontró una asociación entre el consumo de legumbres y mayor riesgo de diabetes tipo 2: cada incremento de 20 g/día en la ingesta de legumbres se asoció con un incremento de un 2 % en el riesgo. Sin embargo, esta asociación no fue homogénea entre las diferentes regiones estudiadas; mientras que en Europa (Alemania, Reino Unido, y Suecia) sí se encontraba esta asociación, no ocurría así en América, en el Mediterráneo oriental y en el Pacífico occidental (Pearce et al., 2021). Los autores

indican que una posible explicación a esta disparidad de resultados se debe a la forma de cocinado de las legumbres; por ejemplo, en los países europeos, donde se observó un incremento del riesgo, las legumbres se consumen en guisos que también incluyen carnes rojas y/o procesadas. Sin embargo, esta hipótesis ha sido examinada en un estudio en población española, donde las legumbres forman parte de recetas que incluyen diferentes tipos de carne, y no se encontró ningún efecto perjudicial en una variable de salud general (Caballero et al., 2020). Otras posibles explicaciones relacionadas con el contexto donde se consumen las legumbres necesitan ser investigadas. Finalmente, en un artículo que revisaba los resultados de 6 metaanálisis de estudios observacionales, los autores concluyeron que existía una asociación entre el consumo de legumbres y una disminución del riesgo de enfermedad coronaria y cáncer colorrectal. Sin embargo, indicaron que la calidad de la evidencia era limitada debido a la heterogeneidad de los trabajos y a la presencia factores de confusión en los análisis de los estudios revisados (Martini et al., 2021).

La soja es una legumbre procedente del sureste asiático, que cada vez se consume más en España. En comparación con el resto de las legumbres, la soja aporta mayor cantidad de hierro, magnesio, potasio, además de ácido fólico y vitaminas como B1, B2, B3 y B6. Además, es una de las fuentes vegetales de proteína de alta calidad, al contener los 9 aminoácidos esenciales. Los alimentos elaborados con soja pueden también ser fermentados, lo que mejora la digestibilidad y absorción de nutrientes y hace que se considere un alimento probiótico. Por otro lado, la soja y productos de soja contienen isoflavonas, un tipo de fitoestrógeno que es capaz de unirse a los receptores estrogénicos humanos, causando un efecto estrogénico leve o una actividad antiestrogénica, dependiendo de la situación hormonal de la persona que consume este alimento; el efecto de estas isoflavonas es controvertido (Allred et al., 2001) (HSPH, 2022b).

Los efectos de la soja en la salud no han sido bien caracterizados aún, aunque existen evidencias de un efecto beneficioso mejorando el perfil lipídico. En una revisión reciente se analizaron 46 ensayos clínicos que examinaban el efecto de los productos de soja sobre el perfil lipídico. Los autores observaron que estos efectos no eran uniformes y dependían del contenido en proteínas e isoflavonas del producto de soja utilizado, así como de la cantidad ingerida y de la duración de la intervención (Moradi et al., 2020). En otra revisión sistemática de 24 ensayos clínicos, el consumo de productos de soja redujo las concentraciones séricas de marcadores de inflamación, incluyendo la proteína C reactiva, en mujeres postmenopáusicas (Bajerska et al., 2022). Estudios observacionales han encontrado que las personas que consumían tofu de forma habitual tenían menor riesgo de desarrollar enfermedad coronaria que las no consumidoras, con un mayor efecto protector en mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas sin tratamientos hormonales (Ma et al., 2020). Otro estudio observacional reciente encontró que consumos habituales de soja de 4 o más raciones a la semana, se asociaban con un 25 % menor riesgo de mortalidad cardiovascular que el no consumo (Wang et al., 2021b). La relación entre el consumo de soja y el riesgo de desarrollar cáncer es inconsistente (Nachvak et al., 2019). En concreto, para el cáncer de mama, se piensa que los efectos de la soja están modulados por el estado de la menopausia, la edad de consumo y el tipo de cáncer de mama (Zhao et al., 2019). Estudios observacionales recientes han asociado una mayor ingesta de soja con un 64 % menos riesgo de muerte por cáncer de mama en mujeres sin enfermedad, y un

51 % menos de riesgo de muerte después del diagnóstico de cáncer, en comparación con participantes con consumos muy bajos o sin consumo de soja (Ho et al., 2021). Ensayos clínicos que han evaluado el efecto de la suplementación con isoflavonoides sobre la evolución del cáncer de mama no han podido demostrar un efecto beneficioso (Finkeldey et al., 2021).

Los posibles efectos beneficiosos de las legumbres se pueden explicar por los siguientes mecanismos de acción: 1) los hidratos de carbono de digestión lenta mejoran el perfil glucémico; 2) los componentes no digeribles actúan como probióticos favoreciendo procesos de fermentación bacteriana, cuyos metabolitos son anticancerosos; 3) los minerales y fitoquímicos mejoran la función inmunitaria y disminuyen el estrés oxidativo, lo que podría ayudar a inhibir el crecimiento de tumores; y 4) la fibra de las legumbres ayuda a mejorar el perfil lipídico e incrementa la sensación de saciedad.

En general, los alimentos proteicos de origen vegetal tienen menor impacto en el medioambiente que los de origen animal, y de todos ellos, las legumbres son las que generan menor impacto. Gracias a ciertas bacterias en sus raíces, con las que conviven en simbiosis, son capaces de fijar el nitrógeno atmosférico, disminuyendo así la necesidad de fertilizantes. Se ha cuantificado que, para obtener la misma cantidad de proteínas, el cultivo de legumbres emite 50 veces menos gases de efecto invernadero, en comparación con la producción de carne de ternera; respecto a la carne de cerdo, emite 11 veces menos; 7 veces menos en relación con la carne de pollo y 6 veces menos en comparación con la producción de huevos (Poore y Nemecek, 2018). Estos beneficios también se han evidenciado en relación con otros indicadores ambientales, como son el uso de recursos naturales (suelo, agua), y las emisiones acidificantes y eutrofizantes (Poore y Nemecek, 2018).

Las DGA 2020-2025 (DGA, 2020) aconsejan el consumo de este grupo de alimentos como fuente de proteínas saludables, con una recomendación de 1,5 raciones a la semana, para una dieta de 2000 kcal. La Comisión EAT-Lancet (Willett et al., 2019) recomienda consumir al menos una ración de legumbres al día (50 g en peso seco), por todos los beneficios que aportan a la salud además de los beneficios adicionales por sustituir al consumo de carne roja y procesada. La soja se incluye dentro del grupo de las legumbres, aunque se da una recomendación específica para este alimento, sugiriendo un consumo equivalente a 25 g en seco de habas de soja al día, además de la cantidad recomendada para el resto de las legumbres; se señala que su consumo es intercambiable con otras fuentes de proteína vegetal. Las recomendaciones dietéticas actuales en España para el consumo de legumbres son de 2 a 4 raciones por semana (AESAN, 2020a). El índice MEDAS (*Mediterranean Diet Adherence Screener*) de adherencia al patrón de dieta mediterránea sugiere un consumo de, al menos, 3 raciones a la semana (Schröder et al., 2011), y la pirámide de dieta mediterránea sostenible (Serra-Majem et al., 2020) propone el consumo diario de legumbres como fuente de proteínas vegetales.

Dadas las evidencias científicas presentadas en este apartado sobre las legumbres, su gran aporte proteico y de hidratos de carbono de digestión lenta y el hecho de que es uno de los grupos de alimentos más asequibles y con menor impacto ambiental, se recomienda un consumo de, al menos, 4 raciones a la semana hasta llegar a un consumo diario, para así poder reducir la ingesta de proteínas de origen animal y el consumo de cereales no integrales.

2.4.1.2 Frutos secos

Los frutos secos son alimentos ricos en grasas insaturadas (ácidos grasos omega 3), proteínas y fibra. Además, contienen vitaminas (ácido fólico y vitamina E), minerales (selenio y magnesio) y sustancias fitoquímicas (polifenoles y fitosteroles). En España, los frutos secos forman parte del patrón de dieta mediterránea, en particular, las almendras, las avellanas y las nueces. Los cacahuetes, aunque son leguminosas, se suelen incluir en este grupo.

Los componentes de los frutos secos les confieren diversas propiedades saludables, como la capacidad de reducir los niveles de colesterol LDL (*Low-Density Lipoprotein*) y de aumentar los de colesterol HDL (*High-Density Lipoprotein*). Además, algunos frutos secos como las nueces contienen ácido linoleico, un ácido graso omega 3 esencial porque no puede sintetizarse en el organismo. Estos ácidos grasos omega 3 forman parte de las membranas celulares y de las vías metabólicas de producción de hormonas reguladoras de procesos inflamatorios, coagulación y contracción y relajación de las paredes arteriales, por lo que ejercen una función beneficiosa en el sistema cardiovascular (HSPH, 2022c).

En un metaanálisis reciente, que incluía ensayos clínicos realizados en países de todos los continentes, con participantes sanos y también con individuos con factores de riesgo cardiometabólico, se encontró que el consumo de cacahuetes se asociaba a una reducción de los triglicéridos plasmáticos y del cociente colesterol LDL/colesterol HDL (Parilli-Moser et al., 2022). Además, en una revisión narrativa, los autores indicaban que el consumo de frutos secos podía tener efectos beneficiosos en la respuesta glucémica, perfil lipídico, estrés oxidativo y respuesta inflamatoria, aunque no estaba claro qué tipo de fruto seco era más beneficioso (Khalili et al., 2022). Dos metaanálisis de ensayos clínicos encontraron efectos beneficiosos en el perfil lipídico con el consumo de pistachos (Hadi et al., 2021) (Gunathilake et al., 2022). Otra revisión sistemática con ensayos clínicos en pacientes con dislipidemia concluía que el consumo de frutos secos mejoraba el perfil lipídico de estos pacientes (Altamimi et al., 2020). Una revisión de la literatura de estudios observacionales encontró un efecto beneficioso del consumo de frutos secos en la disminución del riesgo de mortalidad por enfermedad cardiovascular (Martini et al., 2021). Otra revisión, examinando el efecto de este grupo de alimentos sobre el riesgo de diabetes tipo 2, no encontró una asociación significativa para los frutos secos en conjunto, aunque si se observó una asociación inversa con el consumo de mantequilla de cacahuete (Becerra-Tomás et al., 2021). Resultados de un estudio observacional en una población de personas con diabetes mostraron un menor riesgo de enfermedad cardiovascular en aquellos con mayor consumo de frutos secos, en comparación con los participantes con consumos más bajos (Liu et al., 2019). Finalmente, los resultados del estudio de cohortes PURE, con datos de 16 países en todo el mundo, encontró que un consumo elevado de frutos secos (>120 g/semana), en comparación con un consumo bajo (<30 g/mes), se asociaba con un 12 % de reducción de la mortalidad cardiovascular (de Souza et al., 2020). También existen evidencias sobre el efecto de los frutos secos en el riesgo de desarrollar cáncer: 3 metaanálisis recientes han identificado una asociación dosis-respuesta entre mayor consumo de frutos secos y menor riesgo de incidencia de cáncer y mortalidad por esta patología: un incremento de 5 g/día en la ingesta de frutos secos se asociaba a un 4 % menos de mortalidad (Long et al., 2020) (Zhang et al., 2020) (Naghshi et al., 2021).

El impacto ambiental de la producción de frutos secos es variable. El empleo de métodos de cultivo poco respetuosos con el medioambiente, principalmente reportados en el cultivo de almendros, puede suponer una elevada demanda de agua, fertilizantes y plaguicidas, generando un gran impacto en el entorno (Poore y Nemecek, 2018). Sin embargo, los cultivos de árboles tienen la capacidad de actuar como sumideros de carbono y reducir la filtración de fitoquímicos, pudiendo contribuir a la mitigación del cambio climático y reducción de la contaminación de las masas de agua, si se cultivan mediante técnicas respetuosas con el medioambiente.

Las DGA 2020-2025 (DGA, 2020) aconsejan el consumo de este grupo de alimentos como fuente de proteínas saludables, con una recomendación de, aproximadamente, 140 g/semana de frutos secos, donde se incluyen también semillas y productos derivados de la soja. La Comisión EAT-Lancet (Willett et al., 2019) sugiere un consumo de 50 g al día, incluyendo también el consumo de cacahuetes, y hace especial mención a su consumo como alternativa a la carne roja. Señala que puede ser intercambiado por otras fuentes proteicas vegetales. Las recomendaciones dietéticas en España para el consumo de frutos secos indicaban un consumo de frutos secos varias veces a la semana (AESAN, 2020a). El índice MEDAS sugiere un consumo de, al menos, 3 raciones a la semana, evitando las presentaciones con sal, azúcar y fritos (Schröder et al., 2011). La pirámide de dieta mediterránea sostenible (Serra-Majem et al., 2020) recomienda un consumo diario de frutos secos (1-2 raciones) con bajo contenido en sal, como tentempié saludable con alto valor saciante.

La recomendación de estas guías alimentarias es un consumo de 3 o más raciones de frutos secos a la semana, pudiéndose alcanzar el consumo de hasta 1 ración diaria, considerando que su ingesta debe equilibrarse con una disminución del consumo de otros alimentos para mantener un peso corporal saludable. Los frutos secos deben elegirse sin sal, grasas ni azúcares añadidos.

2.4.2 Fuentes de proteínas animales

2.4.2.1 Pescados y mariscos

El pescado es un alimento rico en proteínas de alta calidad, vitamina D, yodo y selenio, y bajo en grasas saturadas. Además, el pescado azul, como atún, arenque, sardina, boquerón, caballa, salmón, anguila, y bonito, es rico en ácidos grasos poliinsaturados omega 3 (docosahexaenoico y eicosapentaenoico). Los mariscos proporcionan vitaminas B1 y B2, y minerales (fósforo, potasio, hierro, yodo, flúor y zinc) y tienen un contenido alto en proteínas y bajo en sodio, grasas saturadas y calorías.

Existe una amplia evidencia de los efectos beneficiosos del consumo de pescado sobre la salud, fundamentalmente debido a su contenido en ácidos grasos y a su proteína magra (Jiang et al., 2021). Una revisión de 34 metaanálisis de estudios observacionales ha reportado que un incremento de 100 g/día en el consumo de pescado se asocia con un 8 % de disminución del riesgo de mortalidad prematura, un 25 % de menor riesgo de mortalidad cardiovascular y un 12 % de menor riesgo de depresión (Jayedi y Shab-Bidar, 2020). Sin embargo, otro metaanálisis más reciente cuestiona que el pescado no graso tenga efectos cardiosaludables, ya que sólo observan un efecto beneficioso en el riesgo cardiovascular y mortalidad para el pescado graso (es importante mencionar que los metaanálisis anteriores no distinguían entre ambos tipos de pescado) (Giosuè et al., 2022).

Una revisión sobre los efectos metabólicos asociados al consumo de pescado concluyó que este alimento tenía un impacto beneficioso en el funcionamiento de la tiroides, se asociaba al mantenimiento de un peso saludable, mejoraba el metabolismo de la glucosa, disminuía la presión arterial y ayudaba a preservar la masa muscular (Mendivil, 2021). Sin embargo, el estudio PURE, con información procedente de 58 países, encontró que el consumo de pescado, incluido el graso, se asociaba con menor riesgo de enfermedad cardiovascular y mortalidad en pacientes con patología cardiovascular, pero no en población general (Mohan et al., 2021). Por último, también se ha encontrado una asociación beneficiosa entre el consumo de pescado y un menor riesgo de desarrollar cáncer colorrectal (Caini et al., 2022). Esta asociación también se observa con el consumo de pescado enlatado (Franchi et al., 2022).

La AESAN, en el año 2019, publicó un documento en el que recomendaba precaución en el consumo de pescado de especies acumuladoras de mercurio (pez espada, emperador, atún rojo, tiburón o cazón y lucio) (AESAN, 2019b). Esto es especialmente importante en grupos vulnerables de la población, como son las mujeres embarazadas o que se encuentren planificando un embarazo, en periodo de lactancia y en la población infantil de 0 a 10 años, aunque existen evidencias en España que indican que los niveles de mercurio presentes en el pescado fresco y enlatado no representan riesgo para la salud de la población consumidora (García et al., 2016). Dado que existen diferentes especies de pescado con bajo contenido en mercurio, estos colectivos vulnerables no necesitan dejar de consumir pescado, ya que eliminarían de su dieta nutrientes esenciales para su desarrollo (Grandjean et al., 1997) (Hibbeln et al., 2007).

Se entiende que un pescado proviene de una fuente sostenible cuando se capturan tantos peces como se necesitan para satisfacer la demanda, pero sin que sean demasiados para evitar que se puedan reproducir de forma adecuada, renovándose de forma continua, de manera que las generaciones futuras puedan seguir abasteciéndose de ella. En la actualidad, el 34 % de las poblaciones de peces destinados a consumo humano están sobreexplotadas y el porcentaje es mucho mayor en el mar Mediterráneo (FAO, 2020b). En paralelo, algunas técnicas de pesca conllevan la captura de diversos animales que no son la población diana original; encontrándose, entre ellos, especies de peces con bajo o nulo valor de mercado. Por ello, conviene fomentar el consumo de especies que pueden no ser tan habituales en nuestro medio, para evitar que sean descartadas por no tener salida en el mercado.

No obstante, hay que tener en cuenta que la pesca también genera un impacto en el medio mediante la emisión de gases de efecto invernadero y, en el caso de las piscifactorías, no solo la emisión de contaminantes (gases de efecto invernadero, nitrógeno, fósforo) sino también el uso de recursos, como agua y suelo. Existe una gran variabilidad en estos indicadores ambientales entre los diferentes tipos de pescado en función de las técnicas utilizadas y las características propias de la especie en cuestión (Gephart et al., 2021). En lo que respecta a la pesca salvaje, algunas de las especies más frecuentemente consumidas, como calamares, atún, salmón, bacalao o merluza, tienen una huella de carbono por peso comestible similar a la del pollo, alimento con el menor impacto ambiental de entre los distintos tipos de carne; en el caso de los peces pelágicos pequeños que forman grandes bancos, como sardina, arenque o caballa, la huella de carbono

es incluso más baja que la del pollo. En el extremo contrario encontramos los peces planos que no forman bancos y que se capturan con técnicas de arrastre, como lenguado, y los crustáceos, como langosta y gamba, cuya huella de carbono es notablemente alta. En el caso de los peces de acuicultura, su impacto ambiental es menor que otras fuentes proteicas de origen animal; y en algunos casos como el salmón o la trucha, o muy especialmente en los moluscos bivalvos como el mejillón, almeja, ostras o navaja, su impacto es incluso menor que la carne de pollo. Los crustáceos de acuicultura tienen un impacto medioambiental muy alto (Gephart et al., 2021).

Las DGA 2020-2025 (DGA, 2020) aconsejan el consumo de pescado como fuente de proteínas animales de calidad, con una recomendación de 224 g/semana (2 raciones aproximadamente), para una dieta de 2000 kcal. La Comisión EAT-Lancet (Willett et al., 2019) sugiere un consumo de hasta 2 raciones a la semana, aunque señala que puede ser mayor si es en sustitución de carne y huevos. Las recomendaciones dietéticas en España para el pescado indican un consumo de, al menos, 2 veces por semana, incluyendo pescado azul (AESAN, 2020a). El índice MEDAS de adherencia al patrón de dieta mediterránea sugiere un consumo de, al menos, 3 raciones a la semana, sin especificar el tipo de pescado (Schröder et al., 2011). La pirámide de dieta mediterránea sostenible (Serra-Majem et al., 2020) incluye una recomendación de ≥2 raciones. El consumo de pescado también tiene un peso muy importante en la dieta atlántica española.

Teniendo en cuenta las evidencias científicas presentadas en este apartado y las características de las dietas tradicionales españolas, se recomienda un consumo de, al menos, 3 raciones a la semana de pescado, priorizando el consumo de pescado azul.

2.4.2.2 Huevos

Son un alimento de gran interés nutricional por su concentración de proteínas de alto valor biológico, vitaminas (A, D, B12, B7), minerales (fósforo, selenio), antioxidantes (luteína, zeaxantina) y ácidos grasos en cantidad moderada, fundamentalmente monoinsaturados, poliinsaturados y colesterol. Dado que el colesterol presente en el huevo tiene un impacto modesto en los niveles sanguíneos de este lípido en la mayoría de las personas, este nutriente no es determinante para el riesgo cardiovascular de las personas consumidoras de huevo. Sin embargo, hay personas sensibles a la ingesta de colesterol dietético y su consumo les produce un incremento elevado de sus niveles en sangre; para ellos, el consumo de huevos es desaconsejado (Kratz, 2005).

Estudios observacionales sugieren que el consumo de 1 huevo al día no se asocia con mayor riesgo cardiovascular (Hu et al., 1999), aunque superar esa ingesta podría incrementar el riesgo de insuficiencia cardiaca (Djoussé y Gaziano, 2008). El metaanálisis más reciente que ha examinado el consumo de huevos en relación con la enfermedad cardiovascular, con 33 estudios incluidos, sugiere que el consumo moderado (hasta 1 huevo/día) no se asocia con enfermedad cardiovascular, y en cohortes asiáticas se asocia a menor riesgo (Drouin-Chartier et al., 2020a). Sin embargo, en otro metaanálisis reciente, cada incremento de 1 huevo en el consumo diario se asoció con un 14 % más riesgo de diabetes tipo 2 en población americana, pero no en población europea o asiática (Drouin-Chartier et al., 2020b). Es posible que los ajustes por otros componentes de la dieta que se consumen simultáneamente con el huevo expliquen estas diferencias, ya que el consumo de

este alimento en población americana se hace como parte de un patrón de dieta "occidental" no saludable, mientras que el consumo de huevo en poblaciones europeas y asiáticas se incluye en preparaciones culinarias elaboradas (Dehghan et al., 2020). En España, el consumo de huevos está ligado a recetas tradicionales, como son la tortilla de patatas o los revueltos de hortalizas.

Además, se han publicado 2 metaanálisis muy recientes que abordan la asociación entre consumo de huevos y mortalidad. El primero de ellos, con 24 estudios observacionales, encontró que un incremento adicional de 1 huevo/día en el consumo habitual se asociaba con un incremento modesto (6 %) en el riesgo de mortalidad prematura, sobre todo en personas mayores, en estudios realizados con población de Estados Unidos (Ma et al., 2022). El segundo metaanálisis, con 32 estudios observacionales, concluyó que el consumo de huevos no se asociaba con mortalidad por todas causas, cardiovascular o respiratoria, pero la categoría de consumo más elevada, en comparación con la categoría de menor consumo, se asociaba con un 20 % más de riesgo de mortalidad por cáncer. Los autores sugieren un consumo de este alimento bajo o moderado, de hasta 1 huevo al día (Mousavi et al., 2022).

El impacto ambiental de los huevos, aunque mayor que las fuentes proteicas vegetales, es de los menores entre los alimentos de origen animal (Poore y Nemecek, 2018).

Las DGA 2020-2025 (DGA, 2020) aconsejan el consumo de huevos como fuente de proteínas animales de calidad, con una recomendación conjunta de consumo de carne magra y huevos de 740 g/semana (7 raciones aproximadamente), para una dieta de 2000 kcal. La Comisión EAT-Lancet (Willett et al., 2019) sugiere un consumo de hasta 91 g a la semana, lo que equivaldría a 1,5 huevos medianos. En documentos posteriores, para facilitar la transmisión del mensaje, se habla de hasta 2 raciones a la semana (Devries y Willett, 2021). Las recomendaciones dietéticas en España para el huevo sugerían un consumo de 2 a 4 veces por semana (AESAN, 2020a).

Dado que el consumo de huevo es mejor opción que el consumo de carne como fuente de proteínas en la dieta, que es un alimento asequible y con un impacto ambiental relativamente bajo, se sugiere modificar la recomendación anterior y proponer un consumo de hasta 4 huevos a la semana.

2.4.2.3 Leche y productos lácteos

Los productos lácteos son una variedad de alimentos con diferentes propiedades, incluyendo leche, helados, crema y productos fermentados (yogur y queso). Todos ellos son fuente importante proteínas de alto valor biológico, calcio y otros minerales (fósforo, potasio, yodo), vitaminas A, D, B6 y B12, y grasas saturadas. Los lácteos contienen lactosa (los fermentados, en menor cantidad), un azúcar que causa problemas digestivos a las personas con intolerancia a este nutriente (Willett y Ludwig, 2020).

Debido a su composición nutricional, el consumo de lácteos proporciona efectos beneficiosos en la salud. Así, el calcio, la vitamina D y el fósforo son importantes para el remodelado óseo y el potasio ayuda a disminuir la presión arterial (HSPH, 2022d). Hay evidencia sólida en la literatura que apoya un efecto beneficioso del consumo habitual de leche y yogur en la disminución del riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular. En un metaanálisis reciente de 55 estudios observacionales, un consumo elevado de lácteos, en comparación con un consumo bajo, se asoció con menor

riesgo de hipertensión, enfermedad coronaria e ictus (Chen et al., 2021). En una revisión de metaanálisis de estudios observacionales y ensayos clínicos, los autores concluyeron que ni los lácteos enteros ni los desnatados tenían un efecto adverso en el riesgo cardiovascular. Por el contrario, se encontraron estimadores que sugerían un efecto protector (Fontecha et al., 2019).

También se ha publicado una revisión reciente de metaanálisis sobre lácteos y riesgo de diabetes tipo 2. Los resultados mostraron una asociación dosis-respuesta, en la que un incremento de una ración en el consumo de productos lácteos se asociaba a una disminución entre el 3 y el 7 % en el riesgo de desarrollar esta patología. De entre los lácteos examinados, el yogur y el grupo de lácteos bajos en grasa eran los alimentos que se asociaban con mayor disminución del riesgo (Alvarez-Bueno et al., 2019).

Numerosos estudios han examinado la asociación entre el consumo de lácteos y el riesgo de cáncer, reportando que su consumo se asocia a una disminución del riesgo de cáncer colorrectal, pero también con un aumento del riesgo de cáncer de próstata, hígado y de mama. También se ha observado un efecto beneficioso de los lácteos fermentados reduciendo el riesgo de cáncer total en mujeres (Jin et al., 2020) (Jin y Je, 2021). Además, la asociación entre lácteos y mortalidad prematura fue nula en la última revisión de 8 metaanálisis publicados (Cavero-Redondo et al., 2019). En un estudio reciente que examinó el consumo de lácteos en 3 grandes cohortes se observó que el riesgo de mortalidad prematura asociado al consumo de lácteos dependía del grupo de alimentos con el que se comparaba; por ejemplo, sustituir el consumo de lácteos por el consumo de carne roja y procesada, se asociaba con mayor mortalidad, mientras que sustituir el consumo de lácteos por legumbres o frutos secos se asociaba con menor mortalidad (Ding et al., 2019).

La evidencia del efecto perjudicial de las grasas saturadas procedentes de los lácteos no es concluyente (Astrup et al., 2019, 2020). Se observó que un incremento de un 1 % en la ingesta de grasa saturada de yogur o de queso se asociaba a menor riesgo de enfermedad coronaria, pero un aumento similar en la ingesta de grasa saturada procedente de carne roja o de mantequilla se asociaba con mayor riesgo (Steur et al., 2021). Sin embargo, aunque esta evidencia cuestiona la recomendación de consumir productos lácteos bajos en grasa o desnatados, un consumo de 3 o más lácteos enteros aportaría a la dieta una cantidad de grasas saturadas que sí podrían tener efectos adversos para la salud (Kris-Etherton y Krauss, 2020).

Los lácteos son uno de los grupos de alimentos que generan mayor impacto ambiental en la dieta. En España, su impacto está solo por detrás de las carnes (Ministerio de Consumo/JRC, 2022). El impacto ambiental de los diferentes derivados lácteos varía de unos a otros. Así, cuanto más concentrado sea el alimento, mayor será su impacto ambiental, siendo el queso curado uno de los alimentos con mayor impacto (Poore y Nemecek, 2018). Se ha cuantificado que el consumo de queso es responsable del 7 % del impacto ambiental de la dieta de los españoles. En términos medioambientales, es preferible el consumo de lácteos enteros, evitando así descartar la grasa extraída, o su reincorporación al sistema alimentario en forma de mantequilla, nata o grasa saturada en diferentes productos (Willett et al., 2021).

Las DGA 2020-2025 (DGA, 2020) aconsejan el consumo de lácteos con bajo contenido en grasa, como fuente de proteínas animales de calidad y de calcio, con una recomendación de 3 raciones

al día, para una dieta de 2000 kcal. La Comisión EAT-Lancet (Willett et al., 2019) sugiere el consumo de hasta 1 ración al día. Además, se indica la preferencia por el consumo de lácteos enteros y no consumir grasas añadidas de origen lácteo. Las recomendaciones dietéticas anteriores en España para los lácteos proponen un consumo de 2 a 4 raciones al día (AESAN, 2020a). La pirámide de la dieta mediterránea sostenible sugiere un consumo moderado de lácteos de hasta 2 raciones al día como parte de la dieta tradicional española, donde se consumen sobre todo en forma de yogur y de queso (Serra-Majem et al., 2020).

Basándonos en la evidencia citada, se recomienda el consumo de un máximo de 3 raciones de lácteos al día, como fuente de proteínas y de calcio, evitando los lácteos con azúcares añadidos y con alto contenido en sal. Sin embargo, debido al elevado impacto ambiental de estos alimentos, se sugiere reducir el número de raciones diarias de lácteos si se consumen otros alimentos de origen animal.

2.4.2.4 Carne y productos cárnicos

La carne y los productos cárnicos forman un grupo de alimentos que proporcionan proteínas de alta calidad, vitaminas, sobre todo del grupo B y minerales (hierro hemo, zinc, potasio y selenio). Se considera carne roja a la carne no procesada procedente de la musculatura de animales como la vaca, la ternera, el cerdo, el cordero, el caballo y la cabra. La carne blanca es la carne de aves y conejo. La carne procesada es la carne transformada mediante salazón, curado, fermentación, ahumado u otros procesos para mejorar su sabor o su conservación. La mayoría de las carnes procesadas son de cerdo o vaca, pero también pueden incluir otras carnes rojas, aves, menudencias o subproductos cárnicos (Bouvard et al., 2015).

El consumo de carne procesada se ha clasificado como carcinogénico después de la evaluación de 800 estudios, en los que la mayor parte de la evidencia procedía de su efecto sobre el cáncer colorrectal y, en menor medida, el cáncer de estómago (IARC, 2018). En este mismo estudio, también se encontró una asociación perjudicial entre el consumo habitual de carne roja y un mayor riesgo de cáncer de páncreas y de próstata. Estas asociaciones se pueden explicar porque el procesado de la carne añade nitratos y otros compuestos que son carcinógenos. Además, el cocinado de la carne utilizando técnicas con temperaturas elevadas (fritura, asado a la parrilla) produce compuestos como hidrocarburos aromáticos policíclicos y aminas heterocíclicas, que también son cancerígenas. La carne roja también contiene una mayor cantidad de hierro hemo que la carne blanca y este nutriente facilita la producción de compuestos nitrogenados carcinogénicos.

En 2019 se publicó un metaanálisis que concluía que la magnitud de la asociación entre el consumo de carne roja, carne procesada y el riesgo de mortalidad y de desarrollo de factores de riesgo cardiometabólicos era muy pequeña (Zeraatkar et al., 2019). Este trabajo ha sido muy controvertido, ya que sus conclusiones contradecían la mayoría de las guías alimentarias y recomendaciones de sociedades científicas (HSPH, 2022e). Entre otras críticas, se indicaba que la metodología utilizada para realizar la valoración de los trabajos incluidos era inapropiada para los estudios examinados, mayoritariamente estudios de cohortes (Qian et al., 2020). Sin embargo, la evidencia sobre los efectos perjudiciales del consumo de carne procesada y, en menor medida, del consumo de carne roja, es abrumadora y las evidencias recientes siguen sugiriendo un efecto perjudicial asociado

al consumo de estos alimentos. Así, un metaanálisis reciente de ensayos clínicos indicaba que cuando se comparaban los efectos de la carne roja frente a una dieta con proteínas de origen vegetal en cuanto al riesgo de desarrollar alteraciones cardiometabólicas, la dieta con carne roja incrementaba el riesgo sensiblemente (Guasch-Ferré et al., 2019). Además, análisis de cambio en el consumo de carne en relación con el riesgo de mortalidad prematura, indican que un incremento en su consumo (especialmente carne procesada), se asocia con mayor riesgo de muerte prematura; por el contrario, una disminución en su consumo se asocia con menor riesgo (Zheng et al., 2019). Dos artículos posteriores, con datos de poblaciones europeas y americanas, observaron que la disminución en el consumo de carne roja y procesada, en favor del consumo de otras fuentes de proteínas, se asociaba con menor riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 (Ibsen et al., 2020) (Würtz et al., 2021). Además, 2 estudios de cohortes recientes analizaron el consumo de carne roja en relación con el desarrollo de enfermedad coronaria y cáncer. Los resultados mostraban que sustituir el consumo de carne roja, procesada o no procesada, por alimentos proteicos vegetales, disminuía el riesgo de enfermedad coronaria; por el contrario, aumentar el consumo se asociaba fuertemente a mayor riesgo de cáncer de colon, aunque no a otros tipos de cáncer (Al-Shaar et al., 2020) (Knuppel et al., 2020). Finalmente, se ha publicado también que el consumo habitual de carne procesada se asocia con mayor riesgo de demencia y de fragilidad (Zhang et al., 2021) (Struijk et al., 2022b).

Hoy en día hay unanimidad científica respecto al gran impacto ambiental que supone la ganadería y la necesidad de una adopción generalizada de dietas con bajo contenido en proteína animal (Poore y Nemecek, 2018) (Springmann et al., 2018) (Clark et al., 2020) (IPCC, 2022) . Si bien es cierto que las mejoras implementadas por el sector ganadero en los últimos años han hecho disminuir el impacto ambiental derivado de la cría de animales, el impacto ambiental absoluto derivado del sector ganadero en España ha ido aumentando en el tiempo debido al crecimiento de la cabaña ganadera en nuestro país (Aguilera et al., 2020) (Ministerio de Consumo/JRC, 2022). Según el reciente informe Sostenibilidad del Consumo en España (Ministerio de Consumo/JRC, 2022), más del 43 % de impacto ambiental de nuestra alimentación se debe al consumo de carne, principalmente cerdo, vaca y pollo. De hecho, a pesar de la necesidad de seguir implementando mejoras en la ganadería para conseguir reducir su impacto ambiental y una mayor integración con el entorno, la adopción de una dieta con un menor consumo de carne y lácteos es fundamental para conseguir que, no solo el sector alimentario, sino la huella ambiental total del consumo en España, esté dentro de los límites planetarios (Aguilera et al., 2020) (Ministerio de Consumo, 2022). Dentro de las carnes, el impacto generado por la carne roja es mayor que el de la carne blanca y, entre las carnes rojas, la de rumiantes, principalmente vaca y cordero, tiene un impacto notablemente superior (Poore y Nemecek, 2018) (Aguilera et al., 2020). Independientemente del tipo de carne, se debieran consumir todas las partes del animal, no solo cortes magros, sino también cortes grasos y casquería, evitando así su descarte (Willett et al., 2021).

Según lo recogido en las DGA 2020-2025 (DGA, 2020), se recomienda la ingesta semanal de, aproximadamente, 740 g de carne magra y huevos. Las guías españolas (AESAN, 2020a) proponían una ingesta de 2 a 4 raciones a la semana, preferentemente de pollo o conejo. La Comisión EAT-Lancet propone consumir, como máximo, 1 ración de carne roja y 2 de carne blanca a la semana, pudiéndose sustituir por pescado o huevos, y evitar el consumo de carnes procesadas (Willett et al., 2019).

En la dieta mediterránea, el consumo de carne roja es limitado, siendo preferente el consumo de carne de aves y conejo. La pirámide de dieta mediterránea sostenible (Serra-Majem et al., 2020) cuantifica la ingesta de carne roja en, como máximo, 2 raciones/semana y la de carne procesada en, como máximo, 1 ración/semana.

Estas guías proponen limitar a un máximo de 3 raciones semanales el consumo de carne, priorizando el consumo de carne de aves y conejo y minimizando el consumo de carne procesada.

2.5 Aceite de oliva

El aceite de oliva (AO) es un alimento fundamental en la dieta mediterránea, que aporta ácidos grasos monoinsaturados, escualeno, terpenoides, compuestos fenólicos y vitamina E, entre otros compuestos con acción antioxidante, con un efecto favorable sobre el metabolismo de las lipoproteínas, la función endotelial, los mecanismos inflamatorios y los sistemas que regulan el ciclo celular y la carcinogénesis. En los últimos años se han publicado varios estudios y metaanálisis que apoyan los resultados previos y añaden nuevas evidencias sobre el papel beneficioso del aceite de oliva sobre la salud. A continuación, se describen los más relevantes.

En un estudio realizado sobre una cohorte amplia en Estados Unidos, que incluyó 61 000 mujeres del estudio *Nurses' Health Study* y 32 000 varones del estudio *Health Professionals Follow-up Study* se observó que, tras 24 años de seguimiento y después de ajustar por factores dietéticos y del estilo de vida, las personas con una mayor ingesta de aceite de oliva (>7 g/día) presentaron un descenso del 14 % del riesgo de enfermedad cerebrovascular y del 18 % de enfermedad cardiovascular. La sustitución de 5 g al día de margarina, mantequilla, mayonesa o grasa láctea por una cantidad equivalente de aceite de oliva se asoció con un menor riesgo de enfermedad cerebrovascular y cardiovascular (5-7 % menor) (Guasch-Ferré et al., 2020). Una publicación posterior evaluó el riesgo de mortalidad por distintas causas en estas mismas cohortes (Guasch-Ferré et al., 2022), después de un seguimiento de 28 años. Las personas que tomaban una cantidad mayor de aceite de oliva (>7 g/día) presentaron una mortalidad significativamente menor que las que no lo consumían nunca, con una reducción del riesgo del 19 %. Este descenso en el riesgo de mortalidad se observó al evaluar distintas causas de manera específica: cardiovascular, cáncer, enfermedad neurodegenerativa y enfermedad respiratoria. La sustitución de 10 g al día de margarina, mantequilla, mayonesa o grasa láctea por una cantidad equivalente de aceite de oliva se asoció con un menor riesgo de mortalidad global y por causas específicas, con un descenso del 8-34 %. En estos estudios no se observaron diferencias cuando el aceite de oliva se comparó con otros aceites combinados. Además, un estudio reciente que ha examinado el consumo de aceite de oliva en tres cohortes de población española en relación al riesgo de enfermedad cardiovascular encontró un menor riesgo con un consumo de 20 a 30 g/día, en comparación con un consumo por debajo de 10 g/día. Los autores señalaban que los beneficios eran mayores en las personas consumidoras de AO virgen, que en las que consumían AO refinado (Donat-Vargas et al., 2022).

Además de estos estudios observacionales, se han realizado en España 2 ensayos clínicos para examinar el efecto a largo plazo (5 y 7 años, respectivamente) del consumo de una dieta mediterránea con un alto contenido en aceite de oliva virgen, en comparación con una dieta con bajo

contenido en grasa, en la prevención primaria (Estruch et al., 2018) y secundaria (Delgado-Lista et al., 2022) de la enfermedad cardiovascular. Ambos estudios han encontrado que la dieta mediterránea con aceite de oliva fue superior a la dieta baja en grasa para prevenir esta enfermedad, con una reducción del riesgo de un 30 % en prevención primaria y un 25 % en prevención secundaria.

El aceite de oliva puede contribuir a la prevención de otras enfermedades crónicas, como la diabetes tipo 2. En un metaanálisis que incluyó 4 estudios de cohorte y 29 ensayos clínicos, se evaluó el efecto del AO en la prevención de esta patología, así como la suplementación en pacientes que ya presentaban esta enfermedad (Schwingshackl et al., 2017b). Una mayor ingesta de AO (15-20 g/día) redujo en un 16 % el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2, si bien esta relación no fue lineal. En las personas con diabetes, la suplementación con AO mejoró el control metabólico de la enfermedad. En esta misma línea, un estudio realizado en España observó que una intervención con dieta mediterránea y suplementación con AO (40 g/día) y pistachos, redujo el riesgo de diabetes gestacional en comparación con un grupo control, tras el ajuste por otras variables, así como otras complicaciones materno-fetales (Assaf-Balut et al., 2017).

Una revisión sistemática y metaanálisis recientemente publicada, que incluyó 45 estudios (37 de intervención y 8 estudios de cohorte, con un total de casi un millón de personas), evaluó el efecto de la ingesta de AO sobre la enfermedad neoplásica. Una ingesta mayor se asoció con un 31 % de reducción del riesgo de desarrollar cualquier tumor. Este beneficio se mantuvo cuando se evaluó de manera específica el riesgo de determinados cánceres (mama, gastrointestinal, aero-digestivo superior y del tracto urinario) (Markellos et al., 2022). Este estudio no evaluó la ingesta mínima necesaria para producir este efecto beneficioso. En esta misma línea, otro metaanálisis que evaluó de manera específica el efecto del AO sobre el riesgo de cáncer de mama observó una relación inversa no significativa, con heterogeneidad de los estudios (Sealy et al., 2021).

El efecto del AO sobre el peso corporal también fue evaluado en un metaanálisis que incluyó 11 estudios de intervención, de más de 12 semanas de duración. La suplementación con AO se asoció con una mayor pérdida de peso que el grupo control, con un descenso también significativo de la circunferencia de la cintura y del Índice de Masa Corporal (IMC) (Zamora Zamora et al., 2018). La enfermedad hepática metabólica por depósito de grasa es una complicación de la obesidad y una de las causas más importantes de patología hepática en nuestro medio. Un estudio de intervención reciente en 60 pacientes con obesidad tratados con dieta hipocalórica y aceite de oliva (20 g) o aceite de girasol, durante 12 semanas, observó un efecto beneficioso del aceite de oliva sobre la gravedad del hígado graso, de manera independiente del efecto sobre los factores de riesgo vascular (Rezaei et al., 2019).

El aceite de oliva virgen extra (AOVE) aporta una mayor cantidad de polifenoles y otros compuestos con propiedades beneficiosas para la salud (AESAN, 2021c). Un metaanálisis reciente ha observado que el aceite de oliva rico en polifenoles, en comparación con el aceite de oliva con un aporte menor, mejora los factores de riesgo vascular (colesterol total, colesterol HDL, LDL oxidada y malondialdehido), mediadores de inflamación y presión arterial (George et al., 2019). Sin embargo, por el momento, no se ha demostrado que el AOVE, en comparación con el aceite de oliva refinado, disminuya de manera significativa el riesgo de enfermedad cardiovascular u otras patologías, o la mortalidad.

Existe gran variabilidad en los métodos de cultivo del olivar en España, pero la tendencia de los últimos años hacia vastas extensiones de monocultivos irrigados supone una gran degradación del medioambiente, especialmente en forma de erosión del suelo, desertificación, contaminación generalizada de los recursos hídricos, degradación de hábitats y paisajes, disminución de biodiversidad y sobreexplotación de los escasos recursos hídricos de las zonas de cultivo (Beaufoy, 2001). No obstante, con una gestión adecuada, el cultivo del olivo puede contribuir a la conservación de los recursos naturales y el valor paisajístico propio de la zona mediterránea, así como a potenciar la biodiversidad.

La Comisión EAT-Lancet (Willett et al., 2019) promueve el consumo de aceites vegetales insaturados, mencionando que no hay evidencia suficiente para establecer un límite superior de consumo determinado. El índice MEDAS (Schröder et al., 2011) incluye hasta 3 ítems relacionados con el consumo de aceite de oliva (ser grasa principal de cocinado de alimentos, utilizarse para la elaboración de sofrito y consumir, al menos, 4 cucharadas de aceite al día). La pirámide de dieta mediterránea sostenible (Serra-Majem et al., 2020) lo incluye como fuente principal de grasas en la dieta, indicando que este aceite se usa en las recetas tradicionales.

El aceite de oliva, por sus beneficios sobre la salud, se considera la grasa de elección, como aliño y en la preparación de los alimentos. Se recomienda un consumo diario de aceite de oliva en todas las comidas principales del día. Sin embargo, teniendo en cuenta su elevada densidad energética, habrá que adaptar la cantidad dependiendo del objetivo calórico de cada persona.

2.6 Agua

El agua es el constituyente cuantitativamente más abundante del cuerpo humano y es esencial para la homeostasis celular y la vida. La ingesta total de agua incluye el agua potable, el agua de las bebidas, el agua de las preparaciones culinarias y el agua que forma parte de los alimentos (SENC, 2016).

El requerimiento de agua varía entre individuos y según las condiciones ambientales. El Panel en productos dietéticos, nutrición y alergias de la EFSA, basándose en las evidencias disponibles, establece unas ingestas adecuadas por grupos de edad. En personas adultas, mayores de 18 años, la recomendación general es de 2,5 litros al día para hombres y de 2 litros al día para mujeres (EFSA, 2010). En determinadas situaciones, como la realización de actividad física, ante el aumento de la temperatura o humedad ambiental, la aparición de fiebre o la pérdida de líquidos, es necesario aumentar el aporte de agua. De especial relevancia es el problema de la deshidratación en personas mayores, ya que a medida que avanza la edad, se presentan alteraciones en la percepción de la sed y una saciedad precoz ante la ingesta. Estos efectos son más importantes en personas mayores con deterioro cognitivo o funcional, multimorbilidad o situaciones de vulnerabilidad social (SEGG, 2011).

La Tabla 1 recoge las ingestas diarias de agua recomendadas por la EFSA (2010).

Tabla 1. Ingestas diarias de agua recomendadas por la EFSA (2010)		
Edad	**Agua (l/día)**	
	Hombre	**Mujer**
6-12 meses	0,8-1,0	
1 año	1,1-1,2	
2-3 años	1,3	
4-8 años	1,6	
9-13 años	2,1	1,9
14-17 años	2,5	2
≥18 años	2,5	2

El impacto ambiental del agua embotellada es sustancialmente más alto que el del agua del grifo. Según un estudio español, el consumo poblacional de agua embotellada utilizaría 3500 veces más recursos, y generaría un impacto ambiental 1400 veces mayor que el agua de grifo (Villanueva et al., 2021).

Por todo ello, la recomendación de estas guías es que el agua debe considerarse la bebida principal de elección, con un consumo que cubra las necesidades de la persona. Siempre que sea posible, debe consumirse agua del grifo o corriente.

3. Actualización de las Recomendaciones de actividad física

3.1 Definiciones y términos

- Actividad física: Movimiento humano producido por la contracción de músculos esqueléticos que resulta en un incremento del gasto calórico por encima del basal (Caspersen et al., 1985).
- Actividad de fortalecimiento muscular: Actividad física y ejercicio que incrementa la fuerza muscular ósea, la potencia, la resistencia y la masa (por ejemplo, entrenamiento de fortalecimiento, entrenamiento de resistencia o ejercicios de fuerza muscular y resistencia) (OMS, 2021a).
- Actividad física aeróbica: Actividad en la cual los grandes músculos del cuerpo se mueven rítmicamente durante un periodo de tiempo. La actividad aeróbica -denominada también «de resistencia»- mejora la capacidad cardiorrespiratoria. Ejemplos: caminar, correr, nadar, montar en bicicleta (OMS, 2021a).
- Actividad física de intensidad moderada: En una escala absoluta, intensidad entre tres y menos de seis veces superior a la actividad en estado de reposo. En una escala relativa vinculada a la capacidad de cada persona, la actividad moderada suele puntuar entre 5 y 6 en una escala de 0 a 10 (OMS, 2021a).
- Actividad física en el desplazamiento: Actividad física llevada a cabo con el fin de desplazarse de un lugar a otro, como caminar e ir en bicicleta o en algún otro medio rodado (utilizando medios de locomoción no motorizados, como patinetes, patines, sillas de ruedas, etc.) (OMS, 2021a).

- Actividad física en el hogar: La actividad física realizada en el hogar para llevar a cabo tareas domésticas (limpieza, crianza de niños y niñas, jardinería, etc.) (OMS, 2021a).
- Actividad física en el trabajo: Actividad física realizada durante un trabajo remunerado o voluntario (OMS, 2021a).
- Actividad física en tiempo de ocio: Actividad física realizada por una persona que no es necesaria como actividad esencial de la vida cotidiana, y que se realiza a discreción. Ejemplos: participación en deportes, condicionamiento o entrenamiento mediante ejercicios, o actividades recreativas, como los paseos, el baile o la jardinería (OMS, 2021a).
- Actividad física leve: La actividad física leve equivale a entre 1,5 y 3 MET (equivalente metabólico), es decir, se trata de actividades con un gasto de energía inferior a tres veces el consumo de energía en estado de reposo. Entre ellas figuran, por ejemplo, caminar lentamente, bañarse y otras actividades incidentales que no suponen un aumento notable del ritmo cardíaco ni de la respiración (OMS, 2021a).
- Actividad física multicomponente: En el caso de las personas mayores, la actividad física multicomponente es importante para mejorar la función física y reducir el riesgo de caídas o lesiones por caídas. Estas actividades pueden realizarse en casa o en un contexto grupal estructurado. En muchas de las intervenciones estudiadas se combinan ejercicios de todos los tipos (aeróbico, fortalecimiento muscular y entrenamiento de equilibrio) en una sesión, lo que ha demostrado dar resultados. Un programa de actividad física multicomponente podría consistir en caminar (actividad aeróbica), levantar pesas (fortalecimiento muscular) e incorporaría el entrenamiento de equilibrio. El entrenamiento de equilibrio puede incluir caminar hacia atrás o hacia los lados o permanecer sobre un pie mientras se realiza una actividad de fortalecimiento muscular de la parte superior del cuerpo, como ejercicios de fortalecimiento del bíceps mediante flexiones del brazo. El baile también combina elementos aeróbicos y de equilibrio (OMS, 2021a).
- Actividad física ocupacional: Véase Actividad física en el trabajo (OMS, 2021a).
- Actividad física vigorosa: En una escala absoluta, actividad física que se realiza con una intensidad de ≥6 MET. En una escala relativa vinculada a la capacidad de cada persona, la actividad vigorosa suele puntuar entre 7 y 8 en una escala de 0 a 10 (OMS, 2021a).
- Capacidad cardiorrespiratoria (resistencia cardiorrespiratoria): Componente de la forma física relacionado con la salud. Capacidad de los sistemas circulatorio y respiratorio para suministrar oxígeno durante periodos de actividad física continuada. Suele expresarse en términos de absorción máxima de oxígeno medida o estimada (VO_2 máx) (OMS, 2021a).
- Deporte: Este término abarca una diversidad de actividades realizadas con arreglo a unas reglas, practicadas por placer o con ánimo competitivo. Las actividades deportivas consisten en actividades físicas realizadas por equipos o personas, en ocasiones con sujeción a un marco institucional (por ejemplo, un organismo deportivo) (OMS, 2021a).
- Ejercicio físico: Actividad física planeada, estructurada y repetida, cuyo objetivo es mejorar o mantener uno o más componentes del *Fitness* (Caspersen et al.,1985).
- Ejercicios de fortalecimiento óseo: Actividad física que tiene por objeto incrementar la fortaleza en determinados puntos de los huesos del aparato locomotor. El ejercicio de fortalecimiento

óseo ejerce sobre los huesos un impacto o fuerza de tensión que fomenta el crecimiento óseo y la fortaleza de los huesos. Ejemplos: correr, saltar a la comba o levantar pesos (OMS, 2021a).

- Ejercicios funcionales: Ejercicios que pueden integrarse en la actividad cotidiana para mejorar la fuerza del tren inferior, el equilibrio y el funcionamiento motor. Entre otros ejemplos figuran el equilibrio estático en tándem o monopodal, las sentadillas, el equilibrio estático con asiento, ponerse de puntillas y salvar obstáculos (OMS, 2021a).
- Entrenamiento de equilibrio: Ejercicios estáticos y dinámicos que se practican con el fin de mejorar la capacidad de la persona para responder a movimientos de balanceo o estímulos desestabilizadores causados por el propio movimiento, el entorno u otras causas (OMS, 2021a).
- Equivalente metabólico (MET): El equivalente metabólico de una tarea (MET), o sencillamente el equivalente metabólico, es una medida fisiológica que expresa la intensidad de las actividades físicas. Un MET es el equivalente de la energía gastada por una persona mientras está sentada en reposo (OMS, 2021a).
- *Fitness*, condición física o aptitud física: Habilidad para llevar a cabo tareas con vigor sin fatiga y con una amplia energía para disfrutar de las actividades de ocio activas. Incluye: condición cardiorrespiratoria, resistencia muscular, fuerza muscular, potencia muscular, velocidad, flexibilidad, agilidad, equilibrio, tiempo de reacción y composición corporal. Dado que dichos componentes difieren en importancia cuando se habla de Rendimiento-*Fitness* o de Salud-*Fitness*, se han dividido en dos bloques (Caspersen et al.,1985). El de Salud-*Fitness*, que es el que nos concierne en este informe, incluye condición cardiorrespiratoria, fuerza muscular, resistencia muscular, flexibilidad y composición corporal.
- Flexibilidad: Componente de la forma física relacionado con la salud y con el rendimiento, que corresponde al alcance de los movimientos posibles de una articulación. La flexibilidad está específicamente vinculada a cada articulación, y depende de cierto número de variables, entre ellas la firmeza de determinados ligamentos y tendones. Los ejercicios de flexibilidad mejoran la capacidad de una articulación para apurar al máximo todos sus posibles movimientos (OMS, 2021a).
- Grandes grupos musculares: Piernas, espalda, abdomen, tórax, hombros y brazos (OMS, 2021a).
- Inactividad física: Un nivel insuficiente de actividad física para cumplir las presentes recomendaciones de actividad física (OMS, 2021a).
- Salud: La salud es un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedad (OMS, 1948).
- Sedentarismo: Cualquier comportamiento en estado de vigilia caracterizado por un gasto energético de ≤1,5 MET, sea en posición sentada, reclinada o acostada. La mayoría de los trabajos de oficina, conducir y ver la televisión son ejemplos de comportamientos sedentarios; también se dan en las personas que no pueden ponerse de pie, como quienes van en silla de ruedas (OMS, 2021a).
- Tiempo de pantalla recreativo: Tiempo que se pasa delante de una pantalla (televisión, computadoras, dispositivos móviles) con fines no educativos o de estudio o trabajo (OMS, 2021a).

- Tiempo de pantalla sedentario: Tiempo transcurrido mirando algún pasatiempo en una pantalla (televisión, computadoras, dispositivos móviles). No incluye juegos activos que impliquen una pantalla y requieran de actividad física o movimiento (OMS, 2021a).

3.2 Importancia de la actividad física para la salud

En población infanto-juvenil, desde el año 2014, la organización internacional *Active Healthy Kids Global Alliance* trabaja desde Canadá coordinando la revisión científica de los indicadores más relevantes para promover la práctica de la actividad física en cada país. Los indicadores analizados son: niveles de actividad física; participación en deportes; juego activo; transporte activo; comportamiento sedentario; influencia de amigos/as y familia; influencia de la comunidad y del entorno; políticas nacionales y regionales; y niveles de condición física. Cada uno de estos indicadores se puntúa asignando una graduación comparable entre países (GRADE: Clasificación de la evaluación, desarrollo y valoración de los indicadores). España cuenta con los informes de 2016 (Román-Viñas et al., 2016) y 2018 (Román-Viñas et al., 2018). En el último informe, se indica que el 60-66 % de la población consigue acumular 60 minutos o más de Actividad Física Moderada-Vigorosa (AFMV), al menos, 4 días a la semana; un 60-66 % realiza un transporte activo y un 27-33 % dedica un máximo de 2 horas diarias al tiempo de pantalla, el resto lo supera. Este informe nacional pone de manifiesto la necesidad de reducir el sedentarismo y promover la actividad física desde edades tempranas.

Según los datos del estudio ALADINO 2019 (Alimentación, Actividad Física, Desarrollo Infantil y Obesidad en España) de la AESAN en escolares de 6 a 9 años, el porcentaje de niñas que realizaba, al menos, 1 hora diaria de actividad física, era menor que el de niños (65,2 % frente a 75,4 %). Por otro lado, uno de cada cuatro escolares (25 % de los niños y 23 % de las niñas) tenía un comportamiento sedentario, es decir, dedicaba 3 o más horas al día, entre semana y durante el fin de semana, a actividades sedentarias (leer, hacer deberes o usar dispositivos electrónicos). Los escolares que tenían obesidad presentaban más sedentarismo que los que tenían peso normal, especialmente las niñas (32,5 % de las niñas y 26,9 % de los niños) y realizaban actividad física habitual con menos frecuencia (59,1 % de las niñas y el 70,9 % de los niños) (García-Solano et al., 2021).

En relación a la población adulta, la Encuesta de Hábitos Deportivos en España 2020 (MCD, 2021) mostró que el 19,5 % de las personas adultas practica algún tipo de actividad físico-deportiva a diario, cifra que asciende al 51 % cuando la frecuencia considerada es de, al menos, una vez por semana.

Las recomendaciones de actividad física tienen, por fin último, promover la actividad física y reducir el sedentarismo, y esto pretende el actual informe.

En el año 2010, la OMS publicó las primeras recomendaciones de actividad física y su relación con la salud (OMS, 2010). En 2013, el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad publicó la Estrategia de Promoción de la Salud y Prevención en el SNS (Sistema Nacional de Salud), en la que se incluyó la actividad física como uno de los factores a abordar (MSSSI, 2014). En este marco, en 2015 el Ministerio elaboró las recomendaciones nacionales sobre Actividad Física para la Salud, reducción del Sedentarismo y del Tiempo de pantalla para toda la población (MSSSI, 2015). En ese

mismo año 2015, se publicó el Informe del Comité Científico de la AESAN (AECOSAN, 2015) sobre recomendaciones de actividad física en el marco de la Estrategia NAOS, plenamente alineadas con las recomendaciones de la OMS.

Más recientemente, la OMS ha coordinado la actualización de la revisión de la evidencia científica por parte de un comité de expertos comisionado. Fruto de ese trabajo, la OMS en noviembre de 2020 estableció las nuevas recomendaciones de actividad física y de comportamientos sedentarios (OMS, 2020), que fueron publicadas en español en 2021 (OMS, 2021a). Con el objeto de establecer los niveles de evidencia existentes para las diferentes variables de salud y en los diferentes grupos de población, se realizó una revisión sistemática de las revisiones existentes y metaanálisis, concluyendo con los siguientes mensajes sobre la importancia de la actividad física para la salud de la población:

- La actividad física es buena para el corazón, el cuerpo y la mente. Realizar una actividad física con regularidad puede prevenir y ayudar a gestionar las cardiopatías, la diabetes de tipo 2 y el cáncer, que causan casi tres cuartas partes de las muertes de todo el mundo. Además, la actividad física puede reducir los síntomas de depresión y ansiedad, y mejorar la concentración, el aprendizaje y el bienestar en general.
- Cualquier cantidad de actividad física es mejor que ninguna, y cuanta más, mejor. Para mejorar la salud y el bienestar, la OMS recomienda al menos entre 150 y 300 minutos de actividad aeróbica moderada a la semana (o el equivalente, entre 75 y 150 minutos en actividad vigorosa) para todas las personas adultas, y una media de 60 minutos de actividad física aeróbica moderada al día para la población infantil y los adolescentes, realizando actividad física vigorosa, al menos, 3 días en semana.
- Toda actividad física cuenta ("*Every Move Counts*"). La actividad física puede integrarse en el trabajo, las actividades deportivas y recreativas o los desplazamientos (a pie, en bicicleta o en algún otro medio rodado), así como en las tareas cotidianas y domésticas.
- El fortalecimiento muscular beneficia a todas las personas. Las personas mayores (a partir de 65 años) deberían incorporar actividades físicas que den prioridad al equilibrio y la coordinación, así como al fortalecimiento muscular, para ayudar a evitar caídas y mejorar la salud.
- Demasiado sedentarismo puede ser perjudicial para la salud. Puede incrementar el riesgo de cardiopatías, cáncer y diabetes de tipo 2. Limitar el tiempo sedentario y mantenerse físicamente activo resulta beneficioso para la salud.
- Todas las personas pueden beneficiarse de incrementar la actividad física y reducir los hábitos sedentarios, incluidas las mujeres embarazadas y en puerperio y las personas con afecciones crónicas o discapacidad.

Además de estas conclusiones generales sobre la importancia del aumento de la actividad física y reducción del sedentarismo para la salud de la población, la Organización Mundial de la Salud y Organización Panamericana de la Salud resumieron la evidencia científica existente para cada grupo de población (PAHO, 2019) (OMS, 2021a):

- En población infantil menor de 5 años: Estudios de intervención aleatorizados y no aleatorizados sostuvieron que la actividad física se asociaba con un mejor desarrollo motor, cognitivo

y psicosocial, y mejor salud cardiometabólica. Además, estudios observacionales mostraron que la actividad física se asociaba con mejor desarrollo motor, el estado físico y la salud ósea y esquelética. La actividad física de intensidad moderada a vigorosa y la actividad física total estaban asociadas beneficiosamente con diversos indicadores de salud.

- En población infantil de 5 años o más y adolescentes: La actividad física resultaba beneficiosa en lo que respecta a los siguientes resultados en salud: mejora de la forma física (capacidad cardiorrespiratoria y muscular), la salud cardiometabólica (tensión, dislipidemia, glucosa y resistencia a la insulina), la salud ósea, los resultados cognitivos (desempeño académico y función ejecutiva) y la salud mental (menor presencia de síntomas de depresión) y menor adiposidad. Además, se observó que un mayor sedentarismo se asociaba con los siguientes resultados negativos en salud: mayor adiposidad, peor salud cardiometabólica, forma física y conducta/conducta prosocial, y menor duración del sueño.
- En población adulta menor de 65 años: La actividad física resultaba ser beneficiosa en cuanto a los siguientes resultados en salud: disminuye el riesgo de mortalidad por todas las causas y la mortalidad cardiovascular, la incidencia de hipertensión, la incidencia de cáncer en órganos específicos y la incidencia de diabetes tipo 2, la salud mental (menor presencia de síntomas de ansiedad y depresión), la salud cognitiva y el sueño, y posible mejora de los indicadores de la adiposidad. Además, un mayor sedentarismo se asociaba con los siguientes resultados negativos en salud: mayor mortalidad por todas las causas, mortalidad cardiovascular y mortalidad por cáncer, e incidencia de enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes tipo 2.
- En población de 65 años o más: La actividad física aportaba beneficios en lo que respecta a los siguientes resultados en salud: disminuye el riesgo de mortalidad por todas las causas y la mortalidad cardiovascular, la incidencia de hipertensión, la incidencia de algunos tipos específicos de cáncer y la incidencia de diabetes de tipo 2, la salud mental (menor presencia de síntomas de ansiedad y depresión), la salud cognitiva y el sueño, y posible mejora de los indicadores de la adiposidad. En las personas mayores la actividad física sirve para prevenir caídas y las lesiones por caídas, así como el deterioro de la salud ósea y funcional. Por otro lado, un mayor sedentarismo se asociaba con los siguientes resultados negativos en salud: mayor mortalidad por todas las causas, mortalidad cardiovascular y mortalidad por cáncer, e incidencia de enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes tipo 2.

3.3 Recomendaciones de actividad física

En 2019, la OMS, tras revisar sistemáticamente la evidencia existente y graduarla, publicó las recomendaciones de actividad física y hábitos saludables en menores de 5 años, dividiendo dichas recomendaciones por etapas claves en este primer periodo de vida (PAHO, 2019). Seguidamente, en 2021, tras un proceso similar de revisión y graduación de la evidencia existente, publicó sus recomendaciones para el resto de grupos de edad desde los 5 años hasta las personas mayores (OMS, 2021a). A continuación, se indican dichas recomendaciones, separadas por grupos de edad:

3.3.1 Lactantes (menores de 1 año)

- Deben estar físicamente activos, varias veces al día de diferentes formas, especialmente mediante el juego interactivo en el suelo; cuanto más mejor. Para aquellos que todavía no se mueven, esto incluye al menos 30 minutos en posición prona (boca abajo) repartidos a lo largo del día mientras estén despiertos.
- No deben permanecer sujetos durante más de una hora seguida (por ejemplo, en carritos, sillitas o tronas o sujetos a la espalda de un cuidador). No se recomienda que pasen tiempo frente a pantallas. En momentos de inactividad, se recomienda que un cuidador les lea o cuente cuentos.

3.3.2 Población infantil de 1 a 2 años

- Deben pasar, al menos, 180 minutos realizando diversos tipos de actividad física de cualquier intensidad, incluida la actividad física de intensidad moderada a elevada, distribuidos a lo largo del día; cuanto más mejor.
- No deben permanecer sujetos durante más de 1 hora seguida (por ejemplo, en carritos, sillitas o tronas o sujetos a la espalda de un cuidador) ni permanecer sentados durante periodos largos de tiempo. Con respecto a población infantil de 1 año, no se recomienda que pasen tiempo en actividades sedentarias ante una pantalla (como ver la televisión o vídeos o jugar a juegos en el ordenador). Para la población infantil de 2 años, el tiempo dedicado a actividades sedentarias frente a una pantalla no debe exceder de 1 hora; cuanto menos mejor. En momentos de inactividad, se recomienda que el cuidador les lea o cuente cuentos.

3.3.3 Población infantil de 3 a 4 años

- Deben pasar, al menos, 180 minutos realizando diversos tipos de actividad física de cualquier intensidad, incluidos, al menos, 60 minutos de actividad física de intensidad moderada a elevada, distribuidos a lo largo del día; cuanto más mejor.
- No deben permanecer sujetos durante más de 1 hora seguida (por ejemplo, en carritos o sillitas) ni permanecer sentados durante periodos largos de tiempo. El tiempo dedicado a actividades sedentarias frente a una pantalla no debe exceder de una hora; cuanto menos mejor. En momentos de inactividad, se recomienda que el cuidador les lea o cuente cuentos.

3.3.4 Población infantil de 5 años o más y adolescentes

- Este grupo de población debe realizar, al menos, una media de 60 minutos de actividad física diaria principalmente aeróbica de intensidad moderada a vigorosa a lo largo de la semana.
- Deben incorporarse actividades aeróbicas de intensidad vigorosa y actividades que refuercen músculos y huesos, al menos, 3 días a la semana.
- Deben limitar el tiempo que dedican a actividades sedentarias, especialmente el tiempo de ocio que pasan delante de una pantalla.

3.3.5 Población adulta menor de 65 años

- Deben acumular a lo largo de la semana un mínimo de entre 150 y 300 minutos de actividad fí-

sica aeróbica de intensidad moderada, o bien un mínimo de entre 75 y 150 minutos de actividad física aeróbica de intensidad vigorosa, o bien una combinación equivalente de actividades de intensidad moderada y vigorosa, con el fin de obtener beneficios notables para la salud.

- También deben realizar actividades de fortalecimiento muscular de intensidad moderada o más elevada para trabajar todos los grandes grupos musculares 2 o más días a la semana, ya que ello reporta beneficios adicionales para la salud.
- Pueden superar los 300 minutos de actividad física aeróbica de intensidad moderada, o bien los 150 minutos de actividad física aeróbica de intensidad vigorosa, o bien una combinación equivalente de actividades de intensidad moderada y vigorosa cada semana, con el fin de obtener mayores beneficios para la salud.
- Deben limitar el tiempo que dedican a actividades sedentarias. Sustituir el tiempo sedentario por una actividad física de cualquier intensidad (incluso leve) se traduce en beneficios para la salud.
- Con el fin de reducir los efectos perjudiciales para la salud de un nivel alto de sedentarismo, deben procurar realizar más actividad física de intensidad moderada a vigorosa de la recomendada.

3.3.6 Población de 65 años o más

- Deben ser tan activas como les permita su capacidad funcional y ajustarán su nivel de esfuerzo en la actividad a su forma física. Por ello, las recomendaciones generales de actividad física y sedentarismo para este grupo de población son las mismas que para la población adulta de 18-64 años descritas en el apartado anterior. Es especialmente importante en esta población, que las personas comiencen con pequeñas dosis de actividad física, para ir aumentando gradualmente su duración, frecuencia e intensidad. La principal diferencia con las recomendaciones del grupo de población de 18-64 años, es que, dentro de su actividad física semanal, estas personas deben realizar actividades físicas multicomponente variadas que den prioridad al equilibrio funcional y a un entrenamiento de fuerza de intensidad moderada o más elevada 3 o más días a la semana para mejorar su capacidad funcional y evitar caídas.

3.4 Consejos prácticos para el cumplimiento de las recomendaciones

La actividad física tiene que introducirse dentro del estilo de vida de las personas y, para conseguirlo, se proponen tres estrategias: sentarse menos, moverse más y hacer ejercicio físico. Existe una asociación directa entre el tiempo que una persona permanece sentada al día y la incidencia de mortalidad por enfermedad cardiovascular y por mortalidad general (Katzmarzyk et al., 2009) (Chau et al., 2013). Por otro lado, niveles elevados de actividad física reducen la mortalidad por cáncer y la enfermedad cardiovascular (Sakaue et al., 2020). El riesgo asociado a pasar 8 horas o más sentado al día puede compensarse con 60-75 minutos de actividad física moderada al día (Ekelund et al., 2016) (Figura 1).

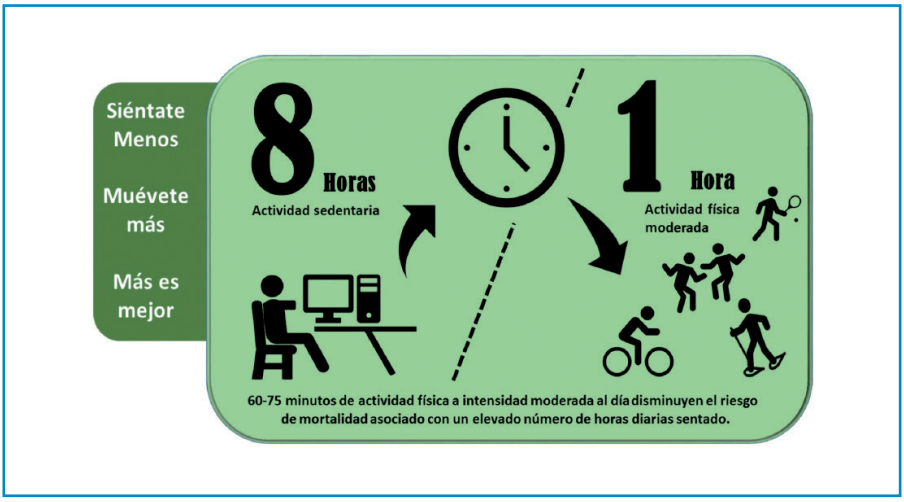

Figura 1. Consejos prácticos para el cumplimiento de las recomendaciones de actividad física [Elaboración propia a partir de Ekelund et al. (2016)].

Para moverse más conviene reducir las horas de estar sentado en el trabajo, en casa y en el centro educativo; incrementar la actividad física moderada, usar el transporte activo y practicar algún ejercicio físico. El ejercicio físico es beneficioso para prevenir y tratar múltiples patologías, por lo que se le considera una "polipíldora" con efecto multisistémico y a bajo coste (Fiuza-Luces et al., 2013).

¿Cuántos pasos hay que dar al día para cumplir las recomendaciones de actividad física?

Probablemente muchas personas han escuchado alguna vez la recomendación de los 10 000 pasos diarios, sin embargo, ¿de dónde viene realmente esta cifra?, ¿tiene alguna base científica?

Lo cierto es que no la tiene. De hecho, los 10 000 pasos vienen de un slogan publicitario de uno de los primeros podómetros que salieron al mercado en Japón en 1965, y se llamaba *Mampo-key*, que en japonés literalmente significa "*ten thousand steps meter*" ("medidor de 10 000 pasos") (Tudor-Locke y Bassett, 2004). La cifra de 10 000 pasos se hizo popular desde ese momento y ha perdurado hasta la actualidad. La investigadora referente en este tema, durante muchos años, ha sido la Dra. Tudor-Locke, quien estimó las primeras equivalencias entre la cantidad de actividad física de las recomendaciones y el número de pasos diarios. Aproximadamente, estimó que las recomendaciones para la población adulta de 150 minutos/semana de actividad física moderada/vigorosa equivalen a unos 7000-8000 pasos diarios (Tudor-Locke et al., 2011), mientras que, para la población infantil y adolescentes, las recomendaciones equivaldrían a unos 10 000-12 000 pasos (Adams et al., 2013). Igualmente, se ha estimado que andar a una intensidad modera es equivalente a una frecuencia de 100 pasos por minuto, siendo de intensidad vigorosa cuando se anda a 130 pasos por minuto (Tudor-Locke et al., 2018).

En los últimos años se han publicado varios estudios importantes relacionando el número de pasos diarios con la mortalidad. La conclusión es que es dependiente de la edad, de modo que las

personas mayores alcanzan la mayor parte de los beneficios con 7000-8000 pasos diarios, mientras que personas más jóvenes alcanzarán la mayor parte de los beneficios para la salud con 10 000-12 000 pasos diarios.

Recientemente, se han publicado 2 metaanálisis que han cuantificado el efecto que tiene el número de pasos diarios sobre la reducción de la mortalidad (Jayedi et al., 2022) (Paluch et al., 2022). Estos metaanálisis demuestran de forma inequívoca que lo que realmente importa es añadir pasos a la vida. Es decir, cada persona, en función de su edad y condición, parte de una media de pasos diaria. Cada aumento de 1000 pasos al día se asocia con una reducción significativa de la mortalidad, y este es el objetivo y mensaje de salud pública, aumentar la media de pasos en 1000 en primera instancia, y seguir aumentando progresivamente.

Estos datos coinciden con el lema de las recomendaciones de actividad física de la OMS: "Cada Movimiento Cuenta" ("*Every move counts!*"), que en lo relativo a pasos podríamos traducir como: "¡Cada Paso Cuenta!".

Hoy en día, los *smartphones*, las pulseras y los relojes inteligentes, nos informan de los pasos diarios y aunque se estima un margen de error entre dispositivos y respecto a métodos de referencia, ofrecen un dato objetivo a la población general que puede ser de gran utilidad para tomar consciencia de cuánto anda al día, e intentar aumentarlo de forma progresiva.

Conclusiones del Comité Científico

1. Recomendaciones dietéticas sostenibles

El Comité Científico considera que la adopción por parte de la población española de un patrón de dieta variada y equilibrada caracterizado principalmente por un mayor predominio de alimentos de origen vegetal y una menor presencia de alimentos de origen animal, puede mejorar el estado de salud y bienestar, a la vez que reducir el impacto medioambiental. El patrón de dieta tradicional mediterránea cumple estas características.

- **Hortalizas y frutas**

  Se recomienda una ingesta mínima de 5 raciones diarias de hortalizas y frutas que podrán distribuirse en, al menos, 3 raciones de hortalizas al día, y 2-3 raciones de frutas al día. El impacto ambiental de las hortalizas y frutas es bajo. El consumo de zumos de frutas no es un sustituto de las frutas enteras.

- **Patatas y otros tubérculos**

  Las patatas y otros tubérculos deben separarse del grupo de hortalizas y frutas debido a sus diferentes propiedades nutricionales. Aunque las patatas son unos de los alimentos con menor impacto ambiental, se recomienda su consumo moderado, formando parte de las recetas tradicionales de nuestro país y priorizando el consumo de cereales de grano entero y legumbres como fuentes de hidratos de carbono de digestión lenta.

- **Cereales**

  La recomendación sobre el consumo de cereales se establece en 3 a 6 raciones al día, dependiendo de las necesidades energéticas de cada persona, y no más de 4 raciones, si se necesita restringir la ingesta calórica. Se aconseja priorizar los cereales de grano entero y productos

integrales, minimizando el consumo de alimentos elaborados con harinas refinadas. Algunas de estas raciones pueden ser sustituidas por el consumo de legumbres, para completar la ingesta de hidratos de carbono. El impacto ambiental de los cereales es bajo.

- **Fuentes de proteínas vegetales y animales: legumbres, frutos secos, pescado, huevos, leche y productos lácteos, y carne**

  Se recomienda priorizar el consumo de alimentos de origen vegetal, frente a los alimentos de origen animal, como fuentes principales de proteínas en la dieta. El consumo de proteína vegetal, principalmente legumbres, debería ocupar una de las raciones proteicas de las comidas principales diarias (comida y cena). La otra ración se puede destinar al consumo de pescado, huevos, lácteos o carne.

  – Legumbres

    Se recomienda un consumo de, al menos, 4 raciones a la semana hasta llegar a un consumo diario de legumbres, como fuente de proteínas y también de hidratos de carbono de digestión lenta, para así poder reducir la ingesta de proteínas de origen animal y el consumo de cereales no integrales. En general, los alimentos proteicos de origen vegetal tienen menor impacto en el medioambiente que los de origen animal, y de todos ellos, las legumbres son las que generan menor impacto y además son alimentos asequibles.

  – Frutos secos

    Se recomienda el consumo de 3 o más raciones a la semana, hasta un consumo de 1 ración diaria, considerando que su aporte energético es elevado y es necesario equilibrarlo con un menor aporte energético de otros alimentos. Los frutos secos deben elegirse sin sal ni grasas ni azúcares añadidos.

  – Pescado

    Se recomienda el consumo de 3 o más raciones a la semana, priorizando el pescado azul sobre el blanco y las especies con menor impacto ambiental.

  – Huevos

    Teniendo en cuenta su alto valor nutricional, que es un alimento asequible y que su impacto ambiental es relativamente bajo, se recomienda un consumo de hasta 4 huevos a la semana.

  – Leche y productos lácteos

    Por su alto aporte nutricional y facilidad de consumo, se recomienda la ingesta de un máximo de 3 raciones de lácteos al día, evitando aquellos con azúcares añadidos y con alto contenido en sal. Sin embargo, debido al elevado impacto ambiental de estos alimentos, se sugiere reducir el número de raciones diarias de lácteos si se consumen otros alimentos de origen animal.

  – Carne

    El consumo debería limitarse a un máximo de 3 raciones semanales de carne, priorizando el consumo de carne de aves y conejo, y minimizando el consumo de carne procesada. La producción de carne, especialmente de vaca y cordero, supone un gran impacto ambiental.

- **Aceite de oliva**

  Se recomienda un consumo diario de aceite de oliva en todas las comidas principales del día,

tanto para el cocinado de los alimentos como para su aliño. Sin embargo, teniendo en cuenta su elevada densidad energética, habrá que adaptar la cantidad dependiendo del objetivo calórico de cada persona.

- **Agua**

  El agua debe considerarse la bebida principal en una dieta saludable. Se recomienda beber tanta agua como sea necesaria y siempre que sea posible, beber agua del grifo o corriente.

Consideraciones generales

Además, habría que tener en cuenta lo siguiente:

- Con respecto a las **hortalizas y frutas**:
  - Incrementar el consumo de hortalizas crucíferas, hortalizas de hoja verde oscura, cítricos y frutos rojos.
  - Dar preferencia al consumo de hortalizas frescas, aliñadas con aceite de oliva y vinagreta, o cocinadas al vapor, siendo ésta la técnica culinaria de elección para conservar los nutrientes.
  - Consumir hortalizas y frutas frescas como tentempié, evitando, en este caso, los zumos de frutas y hortalizas, frutas en almíbar y desecadas.
  - Incluir las hortalizas y las frutas como parte de las preparaciones culinarias. Mantener el uso del sofrito como base de muchas preparaciones culinarias.
  - Consumir hortalizas y frutas frescas de temporada evitando las envasadas. Consumir también hortalizas y frutas con defectos que no respondan a los estándares estéticos.
  - Hortalizas: mezclar diferentes productos tanto en crudo como cocinados. Peso de cada ración 150-200 g. Ejemplos: 1 plato de ensalada variada; 1 plato de hortaliza cocida; 1 crema de hortalizas.
  - Frutas: peso de cada ración: 120-200 g de fruta fresca. Ejemplos: 1 pieza mediana; 1 tazón mediano de cerezas o fresas; 2 rodajas medianas de melón o sandía.
- Sobre las **patatas y otros tubérculos**:
  - Peso por ración: 150-200 g. Ejemplos: 1 patata grande o 2 pequeñas.
- Sobre los **cereales**:
  - Ampliar el tipo de cereales de consumo. Sorgo, mijo, trigo espelta o trigo sarraceno son ejemplos de variedades de óptima calidad nutricional cuyo consumo fomenta la diversidad de cultivos, mejorando la resiliencia de los sistemas alimentarios.
  - Peso por ración: 40-60 g de pan o 60-80 g en seco de pasta o arroz. Ejemplos: 3-4 rebanadas o un panecillo, 1 plato normal.
- En cuanto a las **legumbres**:
  - Es importante incrementar su consumo poco a poco si no se está acostumbrado a un consumo frecuente, para que sean bien toleradas. Se pueden consumir en recetas tradicionales de nuestro país, pero también en ensalada, hamburguesas o como guarnición.
  - Dejar las legumbres en remojo durante varias horas o toda la noche, cambiar el agua de remojo y hacer cocciones prolongadas contribuye a mejorar su digestibilidad y la absorción de sus nutrientes.

- Si el tiempo destinado a su preparación supone un inconveniente, se pueden cocinar en grandes cantidades de una vez y congelar.
- El impacto ambiental de las conservas y de las legumbres cocinadas en casa es similar. Optar por conservas bajas en sal.
- Peso por ración: 50-60 g en seco. Ejemplo: 1 plato normal individual.

• Sobre los **frutos secos**:
  - Peso por ración: 20-30 g. Ejemplo: 1 puñado.

• Sobre el **pescado**:
  - El pescado enlatado tiene un valor nutricional equivalente al pescado fresco, aunque se deben evitar aquellas conservas con un alto contenido en sal.
  - El pescado congelado tiene un valor nutricional equivalente al pescado fresco, aunque con diferentes propiedades organolépticas.
  - Consumir también variedades no habituales para evitar su descarte cuando se pescan de forma accidental.
  - Ración: 125-150 g. Ejemplos: 1 filete individual o varias porciones de marisco.

• Sobre los **huevos**:
  - En situaciones de demanda nutricional elevada, como el embarazo, la lactancia y la anorexia asociada al envejecimiento, el consumo de huevos es muy recomendable, por su alto aporte nutricional y su facilidad de consumo.
  - Acompañar el consumo de huevos con alimentos saludables. Evitar las combinaciones de huevo con alimentos ricos en grasa saturadas y harinas refinadas.
  - Ración: 1 huevo mediano (53-63 g).

• Sobre la **leche y los productos lácteos**:
  - En situaciones carenciales y de demanda nutricional elevada, el consumo de lácteos es recomendable, por su alto aporte nutricional y su facilidad de consumo.
  - Consumir los productos lácteos bajos en grasas si se necesita controlar la ingesta calórica.
  - Ración: 200-250 ml de leche; 85-125 g de queso fresco; 40-60 g de queso curado; 125 g de yogur y otras leches fermentadas. Ejemplos: 1 vaso/taza de leche, 2-3 lonchas de queso, 1 unidad de yogur.

• Sobre la **carne y productos cárnicos**:
  - Elegir cortes magros de carne si se necesita controlar la ingesta calórica.
  - Ración: 100-125 g. Ejemplos: 1 filete mediano; 1 cuarto de pollo; 1 cuarto de conejo.

• Sobre el **aceite de oliva**:
  - El aceite de oliva virgen es el obtenido exclusivamente por medios mecánicos u otros procedimientos físicos que excluyan toda alteración del producto (UE, 2013). Este puede ser el de elección por su contenido en flavonoides. El aceite de oliva virgen extra aporta, además, una mayor calidad organoléptica.
  - Ración: 10 ml. Ejemplos: 1 cucharada sopera.

- Sobre el **agua**:
  - Hay otras bebidas que pueden ayudar a mantener la hidratación, como son el café, el té, las infusiones y las aguas carbonatadas sin azúcar.
  - Las frutas y hortalizas frescas y algunas preparaciones culinarias, como el gazpacho, sopas, consomés, purés, macedonias de fruta fresca o infusiones contribuyen a asegurar una buena hidratación.
- Aspectos para tener en cuenta en todos los grupos de alimentos sobre su **impacto ambiental** y otras consideraciones relacionadas con la **sostenibilidad**:
  - Debido a la gran variabilidad en el impacto ambiental de los alimentos en función de las técnicas agrarias empleadas, tanto en agricultura como en ganadería, pesca y acuicultura, se debe favorecer el consumo de alimentos obtenidos mediante las técnicas más respetuosas con el medioambiente.
  - Evitar alimentos que hayan sido transportados en avión.
  - Favorecer técnicas de cocinado saludables, así como el uso de electrodomésticos con bajo impacto ambiental (microondas u olla a presión) frente a los que requieren más energía (horno) y prestar atención al tiempo de cocinado. Para ahorrar tiempo y energía, se puede cocinar en grandes cantidades y congelar.
  - Es fundamental reducir el desperdicio alimentario y, en caso de que se produzcan restos, descartarlos en los contenedores de materia orgánica.
  - Evitar, en la medida de lo posible, los envases, sobre todo los más perjudiciales para el medioambiente, como pueden ser los plásticos.
  - Obtener alimentos de fuentes que garanticen unas condiciones laborales, salariales y de vida, justas y dignas para todos los intermediarios de la cadena de producción y suministro alimentario.
  - Por motivos de bienestar animal, se recomienda el consumo de huevos procedentes de gallinas criadas en libertad (camperas), así como de carne y lácteos de ganaderías donde la cría de animales cumpla con los estándares de bienestar animal.
  - El consumo de alimentos de cercanía puede favorecer el desarrollo económico y la fijación de empleo en entornos rurales del país.

Otros aspectos a tener en cuenta

- Otras bebidas:

  El consumo de bebidas con azúcares se asocia a una mayor ganancia de peso en población infantil y adulta y a una mayor incidencia de diabetes tipo 2 (Malik y Hu, 2019). Un consumo elevado de este tipo de bebidas también se ha asociado a mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares y sufrir muerte prematura (Yin et al., 2021); estas asociaciones están explicadas en parte, pero no completamente, por la ganancia de peso corporal y hay evidencia sólida que sugiere que son asociaciones causales. Además, un reciente informe de la EFSA indica que la ingesta de azúcares añadidos o libres (porque se añaden a los alimentos o están presentes de forma libre en los zumos de frutas) debe ser lo más baja posible en el contexto de una dieta saludable (EFSA, 2022).

Las bebidas energéticas son aquellas con un alto contenido en cafeína (>15 mg/100 ml). Además, pueden contener otros ingredientes como taurina, L-carnitina, glucuronolactona, guaraná, *ginseng* y vitaminas del grupo B, y azúcar. En un informe reciente de la AESAN se pusieron de manifiesto los riesgos sobre la salud que conlleva el consumo de estas bebidas, en especial cuando se combinan con bebidas alcohólicas (AESAN, 2021d). Por ello, se recomienda evitar su consumo en la población infantil, en adolescentes, en mujeres embarazadas y en periodo de lactancia, así como en personas con hipertensión arterial, problemas cardiovasculares o con alteraciones del sueño. Se recomienda, a la población general, reducir el consumo de bebidas energéticas.

- Alimentos procesados con alto contenido en azúcares, grasas y sal:
  Muchos alimentos procesados utilizan grasas vegetales no saludables, como la de palma, para su elaboración. Además, estos alimentos suelen incluir elevadas cantidades de sal y azúcar. Los estudios existentes muestran que la sustitución de alimentos no procesados en la dieta por alimentos procesados genera efectos perjudiciales sobre la salud, fundamentalmente atribuibles a los ingredientes en su composición, y no tanto a las técnicas de procesado utilizadas (AESAN, 2020b). Por ello, se recomienda favorecer las preparaciones caseras de las recetas, y en caso de consumo de alimentos procesados, elegir aquellos con menor contenido en sal, en azúcar y en grasas distintas al aceite de oliva.
- Mantequilla y otras grasas saturadas animales:
  Se recomienda reducir su consumo.
- Sal:
  La utilización de sal en las preparaciones tiene que ser moderada y, según las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2014, 2021b), tiene que ser yodada. Este criterio se incluye en el marco del nuevo Plan Nacional de Control de la Cadena Alimentaria (PNCOCA) 2021-2025, aprobado en diciembre de 2020, dentro del programa sobre control de menús escolares, máquinas expendedoras y cafeterías de los centros escolares (PNCOCA, 2021-2025).

2. Recomendaciones de actividad física

En el apartado 3.3 se han detallado las recomendaciones de actividad física y comportamientos sedentarios para las diferentes etapas de la vida, separadas por grupos de edad.

De forma más resumida, podemos concluir que, para mejorar la salud y el bienestar, la OMS recomienda:

- Al menos entre 150 y 300 minutos de actividad aeróbica moderada a la semana (ejemplo: andar a un ritmo que nos cueste un poco hablar, montar en bicicleta a un ritmo tranquilo y en llano, bailar suave, entre otros) o el equivalente, entre 75 y 150 minutos en actividad vigorosa (montar en bicicleta a ritmo rápido y en cuesta, bailar de forma enérgica, subir escaleras rápido, nadar y correr a un ritmo rápido, practicar deportes, entre otros) para toda la población adulta y población adulta mayor.
- Al menos una media de 60 minutos de actividad física aeróbica moderada al día para la población infantil y adolescente. Esta población deberá realizar, al menos, 3 días de actividad física vigorosa (por ejemplo, correr, saltar a la comba, subir escaleras rápido, montar en bicicleta a

ritmo rápido y/o en cuesta, practicar deportes y artes marciales) y realizar, al menos, 3 días/semana actividades que estimulen el crecimiento óseo (aquellas que tienen impacto, saltos, correr, juegos que requieran cargar con el propio peso corporal total o parcial, como la carretilla, tracciones de cuerda como el soga-tira, cargar con el peso de otro como llevar a caballito, entre otros).

- La intensidad de la actividad física puede medirse con los equivalentes metabólicos. El gasto energético expresado en unidades metabólicas (MET) es un indicador muy ilustrativo de la intensidad del esfuerzo. Actividades de 3 a 6 MET se consideran moderadas y mayores de 6 MET, vigorosas. Existen tablas donde encontrar información detallada para las personas adultas (Ainsworth et al., 2011).
- Para poder individualizar y simplificar el nivel de intensidad para cada persona podemos utilizar la prueba del habla (Webster y Aznar, 2008) para identificar las actividades moderadas y vigorosas. Una persona que realiza una actividad física de intensidad moderada debe ser capaz de mantener una conversación, pero con cierta dificultad, mientras lleva a cabo la actividad. Cuando una persona jadea o se queda sin aliento y no puede mantener una conversación con facilidad, la actividad puede ser considerada como vigorosa.
- El fortalecimiento muscular beneficia a todas las personas. Las personas de 65 años o más deberían incorporar actividades físicas que den prioridad al equilibrio y la coordinación, así como al fortalecimiento muscular, para ayudar a evitar caídas y mejorar la salud.
- Todas las personas pueden beneficiarse de incrementar la actividad física y reducir los hábitos sedentarios.

Concluimos con el lema de las recomendaciones de la OMS (2021):

¡Cada Movimiento Cuenta! (*Every Move Counts!*). La actividad física puede integrarse en el trabajo, las actividades deportivas y recreativas o los desplazamientos (a pie, en bicicleta o en algún otro medio rodado), así como en las tareas cotidianas y domésticas. Aumentar el número de pasos diario es también una buena forma de mejorar la salud de todas las personas.

Referencias

Adams, M.A., Johnson, W.D. y Tudor-Locke, C. (2013). Steps/day translation of the moderate-to-vigorous physical activity guideline for children and adolescents. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical* Activity, 10, pp: 49.

AECOSAN (2015). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre recomendaciones de actividad física en el marco de la Estrategia NAOS. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 22, pp: 11-18.

AESAN (2019a). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Estrategia para la Nutrición, Actividad Física y Prevención de la Obesidad. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en España en el informe "The heavy burden of obesity" (OCDE, 2019) y en otras fuentes de datos. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/nutricion/observatorio/Resumen_resultados_informe_OCD-NAOS.pdf [acceso: 1-06-22].

AESAN (2019b). Recomendaciones sobre consumo de pescado por presencia de mercurio. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/publicaciones/seguridad_alimentaria/RECOMENDACIONES_consumo_pescado_MERCURIO_AESAN_WEB.PDF [acceso: 26-07-22].

AESAN (2020a). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) de revisión y actualización de las Recomendaciones Dietéticas para la población española. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 32, pp: 11-58.

AESAN (2020b). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre el impacto del consumo de alimentos "ultra-procesados" en la salud de los consumidores. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 31, pp: 49-76.

AESAN (2021a). Adultos que cumplen las recomendaciones de consumo diario de frutas y verduras. Evaluación y seguimiento de la estrategia NAOS: conjunto mínimo de indicadores. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Ministerio de Consumo. Madrid, 2021. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/nutricion/observatorio/indicadores/I13_Adultos_recomendaciones_frutas_verduras.pdf [acceso: 14-07-22].

AESAN (2021b). Menores de 18 años que cumplen las recomendaciones de consumo diario de frutas y verduras. Evaluación y seguimiento de la Estrategia NAOS: conjunto mínimo de indicadores. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Ministerio de Consumo. Madrid, 2021. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/nutricion/observatorio/indicadores/I15_Menores_18_recomendaciones_frutas.pdf [acceso: 14-07-22].

AESAN (2021c). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la valoración del aceite de oliva por sus características nutricionales en el sistema de etiquetado Nutri-Score. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 33, pp: 11-18.

AESAN (2021d). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre los riesgos asociados al consumo de bebidas energéticas. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/BEBIDAS_ENERGETICAS.pdf [acceso: 06-07-22].

Afshin, A., Micha, R., Khatibzadeh, S. y Mozaffarian, D. (2014). Consumption of nuts and legumes and risk of incident ischemic heart disease, stroke, and diabetes: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 100 (1) pp: 278-288.

Aguilera, E., Piñero, P., Infante Amate, J., González de Molina, M., Lassaletta, L. y Sanz Cobeña, A. (2020). Emisiones de gases de efecto invernadero en el sistema agroalimentario y huella de carbono de la alimentación en España. Real Academia de Ingeniería. ISBN: 978-84-95662-77-4.

Ainsworth, B.E., Haskell, W.L., Herrmann, S.D., Meckes, N., Bassett, Jr.D.R., Tudor-Locke, C., Greer, J.L., Vezina, J., Whitt-Glover, M.C. y Leon, A.S. (2011). Compendium of Physical Activities: a second update of codes and MET values. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 43 (8), pp: 1575-1581.

Aleksandrowicz, L., Green, R., Joy, E.J.M., Harris, F., Hillier, J., Vetter, S.H., Smith, P., Kulkarni, B., Dangour, A.D. y Haines, A. (2019). Environmental impacts of dietary shifts in India: A modelling study using nationally-representative data [Article]. *Environment International*, 126, pp: 207-215.

Allred, C.D., Allred, K.F., Ju, Y.H., Virant, S.M. y Helferich, W.G. (2001). Soy diets containing varying amounts of genistein stimulate growth of estrogen-dependent (MCF-7) tumors in a dose-dependent manner. *Cancer Research Journal*, 61 (13), pp: 5045-5050.

Al-Shaar, L., Satija, A., Wang, D.D., Rimm, E.B., Smith-Warner, S.A., Stampfer, M.J., Hu, F.B. y Willett, W.C. (2020). Red meat intake and risk of coronary heart disease among US men: prospective cohort study. *The British Medical Journal*, 371, pp: m4141.

Altamimi, M., Zidan, S. y Badrasawi, M. (2020). Effect of Tree Nuts Consumption on Serum Lipid Profile in Hyperlipidemic Individuals: A Systematic Review. *Nutrition Metabolic Insights*, 13, pp: 1178638820926521.

Alvarez-Bueno, C., Cavero-Redondo, I., Martinez-Vizcaino, V., Sotos-Prieto, M., Ruiz, J.R. y Gil, A. (2019). Effects of Milk and Dairy Product Consumption on Type 2 Diabetes: Overview of Systematic Reviews and Meta-Analyses. *Journal Advances in Nutrition*, 10 (suppl_2), pp: S154-S163.

Assaf-Balut, C., García de la Torre, N., Durán, A., Fuentes, M., Bordiú, E., Del Valle, L., Familiar, C., Ortolá, A., Jiménez, I., Herraiz, M.A., Izquierdo, N., Perez, N., Torrejon, M.J., Ortega, M.I., Illana, F.J., Runkle, I., de Miguel, M.P., Montañez, C., Barabash, A., Cuesta, M., Rubio, M.A. y Calle-Pascual, A.L. (2017). A Mediterranean diet with additional extra virgin olive oil and pistachios reduces the incidence of gestational diabetes mellitus (GDM): A randomized controlled trial: The St. Carlos GDM prevention study. *PLoS One*, 12 (10), pp: e0185873.

Astrup, A., Geiker, N.R.W. y Magkos, F. (2019). Effects of Full-Fat and Fermented Dairy Products on Cardiometabolic Disease: Food Is More Than the Sum of Its Parts. *Journal Advances in Nutrition*, 10 (5), pp: 924S-930S.

Astrup, A., Magkos, F., Bier, D.M., Brenna, J.T., de Oliveira Otto, M.C., Hill, J.O., King, J.C., Mente, A., Ordovas, J.M., Volek, J.S., Yusuf, S. y Krauss, R.M. (2020). Saturated Fats and Health: A Reassessment and Proposal for Food-Based Recommendations: JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American College of Cardiology*, 276 (7), pp: 844-857.

Aune, D., Giovannucci, E., Boffetta, P., Fadnes, L.T., Keum, N., Norat, T., Greenwood, D.C., Riboli, E., Vatten, L.J. y Tonstad, S. (2017). Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality-a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *International Journal of Epidemiology*, 46 (3), pp: 1029-1056.

Bajerska, J., Łagowska, K., Mori, M., Reguła, J., Skoczek-Rubińska, A., Toda, T., Mizuno, N. y Yamori, Y. (2022). A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials of the Effects of Soy Intake on Inflammatory Markers in Postmenopausal Women. *Journal of Nutrition*, 152 (1), pp: 5-15.

Bauer, J., Biolo, G., Cederholm, T., Cesari, M., Cruz-Jentoft, A.J., Morley, J.E., Phillips, S., Sieber, C., Stehle, P., Teta, D. Visvanathan, R., Volpi, E. e Yves Boirie (2013). Evidence-based recommendations for optimal dietary protein intake in older people: a position paper from the PROT-AGE Study Group. *Journal of the American Medical Directors Association*, 14 (8), pp: 542-559.

Bazzano, L.A., He, J., Ogden, L.G., Loria, C., Vupputuri, S., Myers, L. y Whelton, P.K. (2001). Legume consumption and risk of coronary heart disease in US men and women: NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *Archives of Internal Medicine*, 161 (21), pp: 2573-2578.

Beaufoy, G. (2001). The environmental impact of olive oil production in the European Union: practical options for improving the environmental impact. 2001. Disponible en: https://ec.europa.eu/environment/agriculture/pdf/oliveoil.pdf [acceso: 26-07-22].

Becerra-Tomás, N., Paz-Graniel, I., Hernández-Alonso, P., Jenkins, D.J.A., Kendall, C.W.C., Sievenpiper, J.L. y Salas-Salvadó, J. (2021). Nut consumption and type 2 diabetes risk: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 113 (4), pp: 960-971.

Ben Mariem, S., Soba, D., Zhou, B., Loladze, I., Morales, F. y Aranjuelo, I. (2021). Climate Change, Crop Yields, and Grain Quality of C3 Cereals: A Meta-Analysis of [CO2], Temperature, and Drought Effects. *Plants*, 10 (6), pp: 1052.

Bernstein, A.M., Sun, Q., Hu, F.B., Stampfer, M.J., Manson, J.E. y Willett, W.C. (2010). Major dietary protein sources and risk of coronary heart disease in women. *Circulation*, 122 (9), pp: 876-883.

Bernstein, A.M., Pan, A., Rexrode, K.M., Stampfer, M., Hu, F.B., Mozaffarian, D. y Willett, W.C. (2012). Dietary protein sources and the risk of stroke in men and women. *Journal of Stroke*, 43 (3), pp: 637-644.

Beulens, J.W.J., de Bruijne, L.M., Stolk, R.P., Peeters, P.H.M., Bots, M.L., Grobbee, D.E. y van der Schouw, Y.T. (2007). High dietary glycemic load and glycemic index increase risk of cardiovascular disease among middle-aged women: a population-based follow-up study. *Journal of the American College of Cardiology*, 50 (1), pp: 14-21.

Bielefeld, D., Grafenauer, S. y Rangan, A. (2020). The Effects of Legume Consumption on Markers of Glycaemic

Control in Individuals with and without Diabetes Mellitus: A Systematic Literature Review of Randomised Controlled Trials. *Nutrients*, 12 (7), pp: 2123.

Bouvard, V., Loomis, D., Guyton, K.Z., Grosse, Y., Ghissassi, F.E., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Mattock, H. y Straif, K. (2015). International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *The Lancet Oncology*, 16 (16), pp: 1599-600.

Buja, A., Pierbon, M., Lago, L., Grotto, G. y Baldo, V. (2020). Breast Cancer Primary Prevention and Diet: An Umbrella Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17 (13), pp: 4731.

Caballero, F.F., Ballesteros, J.M., García-Esquinas, E., Struijk, E.A., Ortolá, R., Rodríguez-Artalejo, F. y Lopez-Garcia, E. (2020). Are legume-based recipes an appropriate source of nutrients for healthy ageing? A prospective cohort study. *Br Journal of Nutrition*, 124 (9), pp: 943-951.

Caini, S., Chioccioli, S., Pastore, E., Fontana, M., Tortora, K., Caderni, G. y Masala, G. (2022). Fish Consumption and Colorectal Cancer Risk: Meta-Analysis of Prospective Epidemiological Studies and Review of Evidence from Animal Studies. *Cancers* (Basel), 14 (3), pp: 640.

Canani, R.B., Costanzo, M.D., Leone, L., Pedata, M., Meli, R. y Calignano, A. (2011). Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 17 (12), pp: 1519-1528.

Capurso, C. (2021). Whole-Grain Intake in the Mediterranean Diet and a Low Protein to Carbohydrates Ratio Can Help to Reduce Mortality from Cardiovascular Disease, Slow Down the Progression of Aging, and to Improve Life span: A Review. *Nutrients*, 13 (8), pp: 2540.

Carballo-Casla, A., Ortolá, R., García-Esquinas, E., Oliveira, A., Sotos-Prieto, M., Lopes, C., Lopez-Garcia, E. y Rodríguez-Artalejo, F. (2021). The Southern European Atlantic Diet and all-cause mortality in older adults. *BMC Medicine*, 19 (1), pp: 36.

Caspersen, C.J., Powell, K.E. y Christenson, G.M. (1985). Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Reports*, 100 (2), pp: 126-131.

Cavero-Redondo, I., Álvarez-Bueno, C., Sotos-Prieto, M., Gil, A., Martinez-Vizcaino, V. y Ruiz, J.R. (2019). Milk and Dairy Product Consumption and Risk of Mortality: An Overview of Systematic Reviews and Meta-Analyses. *Journal Advances in Nutrition*, 10 (suppl_2), pp: S97-S104.

Chau, J.Y., Grunseit, A.C., Chey, T., Stamatakis, E., Brown, W.J., Matthews, C.E., Bauman, A.E. y van der Ploeg, H.P (2013). Daily sitting time and all-cause mortality: a meta-analysis. *PLoS One*, 8 (11): e80000.

Chen, Z., Ahmed, M., Ha, V., Jefferson, K., Malik, V., Ribeiro, P.A.B., Zuchinali, P. y Drouin-Chartier, J.P. (2021). Dairy Product Consumption and Cardiovascular Health: a Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Journal Advances in Nutrition*, 13 (2), pp: 439-454.

Cheng, A. (2018). Review: Shaping a sustainable food future by rediscovering long-forgotten ancient grains. *Plant Science*, 269, pp: 136-142.

Clark, M. y Tilman, D. (2017). Comparative analysis of environmental impacts of agricultural production systems, agricultural input efficiency, and food choice. *Environmental Research Letters*, 12 (6), pp: 064016.

Clark, M.A., Springmann, M., Hill, J. y Tilman, D. (2019). Multiple health and environmental impacts of foods. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116 (46), pp: 23357-23362.

Clark, M.A., Domingo, N.G.G., Colgan, K., Thakrar, S.K., Tilman, D., Lynch, J., Azevedo, I.L. y Hill, J.D. (2020). Global food system emissions could preclude achieving the 1.5 degrees and 2 degrees C climate change targets. *Science*, 370 (6517), pp: 705-708.

Clarke, S.T., Sarfaraz, S., Qi, X., Ramdath, D.G., Fougere, G.C. y Ramdath, D.D. (2022). A Review of the Relationship between Lentil Serving and Acute Postprandial Blood Glucose Response: Effects of Dietary Fibre, Protein and Carbohydrates. *Nutrients*, 14 (4), pp: 849.

Clune, S., Crossin, E. y Verghese, K. (2017). Systematic review of greenhouse gas emissions for different fresh food categories. *Journal of Cleaner Production*, 140, pp: 766-783.

Colditz, G.A. (2022). Healthy diet in adults. In. UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. Disponible en: www.uptodate.com [acceso: 26-07-22].

Cruz-Jentoff, A.J., Dawson Hughes, B., Scott, D., Sanders, K.M. y Rizzoli, R. (2020). Nutritional strategies for maintaining muscle mass and strength from middle age to later life: A narrative review. *Maturitas*, 132, pp: 57-64.

de Souza, R.J., Dehghan, M., Mente, A., Bangdiwala, S.I., Ahmed, S.H., Alhabib, K.F., Altuntas, Y., Basiak-Rasała, A., Dagenais, G.R., Diaz, R., Amma, L.I., Kelishadi, R., Khatib, R., Lear, S.A., Lopez-Jaramillo, P., Mohan, V., Poirier, P., Rangarajan, S., Rosengren, A., Ismail, R., Swaminathan, S., Wentzel-Viljoen, E., Yeates, K., Yusuf, R., Teo, K.K., Anand, S.S. y Yusuf, S. (2020). PURE study investigators. Association of nut intake with risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 16 countries from 5 continents: analysis from the Prospective Urban and Rural Epidemiology (PURE) study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 112 (1), pp: 208-219.

Dehghan, M., Mente, A. y Yusuf, S. (2020). Eggs and diabetes: 1 daily egg a safe bet? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 112 (3), pp: 503-504.

Delgado-Lista, J., Alcala-Diaz, J.F., Torres-Peña, J.D., Quintana-Navarro, G.M., Fuentes, F., Garcia-Rios, A., Ortiz-Morales, A.M., Gonzalez-Requero, A.I., Perez-Caballero, A.I., Yubero-Serrano, E.M., Rangel-Zuñiga, O.A., Camargo, A., Rodriguez-Cantalejo, F., Lopez-Segura, F., Badimon, L., Ordovas, J.M., Perez-Jimenez, F., Perez-Martinez, P. y Lopez-Miranda, J. (2022). CORDIOPREV Investigators. Long-term secondary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet and a low-fat diet (CORDIOPREV): a randomised controlled trial. *The Lancet*, 399 (10338), pp: 1876-1885.

Devries, S. y Willett, W. (2021). Healthy Plate, Healthy Planet. An Interactive Guide for Clinicians. Disponible en: https://www.gaplesinstitute.org/sustainable_diets_clinicians/ [acceso: 26-07-22].

DGA (2020). Dietary Guidelines for Americans, 2020-2025. 9th Edition.U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services. December 2020. Disponible en: https://www.dietaryguidelines.gov/ [acceso: 26-07-22].

Ding, M., Li, J., Qi, L., Ellervik, C., Zhang, X., Manson, J.E., Stampfer, M., Chavarro, J.E., Rexrode, K.M., Kraft, P., Chasman, D., Willett, W.C. y Hu, F.B. (2019). Associations of dairy intake with risk of mortality in women and men: three prospective cohort studies. *The British Medical Journal*, 367, pp: l6204.

Dinu, M., Pagliai, G., Casini, A. y Sofi, F. (2018). Mediterranean diet and multiple health outcomes: an umbrella review of meta-analyses of observational studies and randomised trials. *European Journal of Clinical Nutrition*, 72 (1), pp: 30-43.

Djoussé, L. y Gaziano, J.M. (2008). Egg consumption and risk of heart failure in the Physicians' Health Study. *Circulation*, 117 (4) pp: 512-516.

Donat-Vargas, C., Sandoval-Insausti, H., Peñalvo, J.L., Moreno Iribas, M.C., Amiano, P., Bes-Rastrollo, M., Molina-Montes, E., Moreno-Franco, B., Agudo, A., Mayo, C.L., Laclaustra, M., De La Fuente Arrillaga, C., Chirlaque Lopez, M.D., Sánchez, M.J., Martínez-Gonzalez, M.A. y Pilar, G.C. (2022). Olive oil consumption is associated with a lower risk of cardiovascular disease and stroke. *Clinical Nutrition*, 41 (1), pp: 122-130.

Drouin-Chartier, J.P., Chen, S., Li, Y., Schwab, A.L., Stampfer, M.J., Sacks, F.M., Rosner, B., Willett, W.C., Hu, F.B. y Bhupathiraju, S.N. (2020a). Egg consumption and risk of cardiovascular disease: three large prospective US cohort studies, systematic review, and updated meta-analysis. *The British Medical Journal*, 368, pp: m513.

Drouin-Chartier, J.P., Schwab, A.L., Chen, S., Li, Y., Sacks, F.M., Rosner, B., Manson, J.E., Willett, W.C., Stampfer, M.J., Hu, F.B. y Bhupathiraju, S.N. (2020b). Egg consumption and risk of type 2 diabetes: findings from 3 large US cohort studies of men and women and a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 112 (3), pp: 619-630.

EFSA (2010). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA); Scientific Opinion on establishing Food-Based Dietary Guidelines. *EFSA Journal*, 8 (3), pp: 1459.

EFSA (2017). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. *Dietary Reference Values for nutrients. Summary Report*. EFSA supporting publication 2017, pp: e15121.98pp.

EFSA (2022). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. EFSA NDA Panel. Scientific Opinion on the tolerable upper intake level for dietary sugars. *EFSA Journal,* 20 (2), pp: 7074.

Ekelund, U., Steene-Johannessen, J., Brown, W.J., Fagerland, M.W., Owen, N., Powell, K.E., Bauman, A., Lee, I.M., Lancet Physical Activity Series 2 Executive Committee y Lancet Sedentary Behaviour Woriking Group (2016). Does physical activity attenuate, or even eliminate, the detrimental association of sitting time with mortality? A harmonized meta-analysis of data from more than 1 million men and women. *The Lancet*, 388, pp: 1302-1310.

Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M.I., Corella, D., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Ruiz-Gutiérrez, V., Fiol, M., Lapetra, J., Lamuela-Raventos, R.M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Basora, J., Muñoz, M.A., Sorlí, J.V., Martínez, J.A., Fitó, M., Gea, A., Hernán, M.A., Martínez-González, M.A., PREDIMED Study Investigators (2018). Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *The New England Journal of Medicine*, 378 (25), pp: e34. EU (2013).

FAO (2002). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Macronutrientes: carbohidratos, grasas y proteínas. Disponible en: https://www.fao.org/3/w0073s/w0073s0d.htm#bm13x [acceso 7-6-22].

FAO (2010). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Sustainable diets and biodiversity. Disponible en: www.fao.org/3/i3004e/i3004e.pdf [acceso: 26-07-22].

FAO (2011). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention. Rome.

FAO (2013). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Food wastage footprint & Climate Change. Disponible en: https://www.fao.org/documents/card/es/c/7338e109-45e8-42da-92f3-ceb-8d92002b0/ [acceso: 26-07-22].

FAO (2019). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Sustainable healthy diets. Guiding principles. Disponible en: www.fao.org/3/ca6640en/ca6640en.pdf [acceso: 26-07-22].

FAO (2020a). Frutas y verduras – esenciales en tu dieta. Año Internacional de las Frutas y Verduras, 2021. Documento de antecedentes. Roma. Disponible en: https://doi.org/10.4060/cb2395es [acceso: 26-07-22].

FAO (2020b). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción. Roma. Disponible en: https://doi.org/10.4060/ca9229es [acceso: 26-07-22].

Farvid, M.S., Barnett, J.B. y Spence, N.D. (2021). Fruit and vegetable consumption and incident breast cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *British Journal of Cancer*, 125 (2), pp: 284-298.

Ferreira, H., Vasconcelos, M., Gil, A.M. y Pinto, E. (2021). Benefits of pulse consumption on metabolism and health: A systematic review of randomized controlled trials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61 (1), pp: 85-96.

Finkeldey, L., Schmitz, E. y Ellinger, S. (2021). Effect of the Intake of Isoflavones on Risk Factors of Breast Cancer-A Systematic Review of Randomized Controlled Intervention Studies. *Nutrients*, 13 (7), pp: 2309.

Fiuza-Luces, C., Garatachea, N., Berger, N.A. y Lucia A. (2013). Exercise is the real polypill. *Physiology*, 28 (5), pp: 330-358.

Fontecha, J., Calvo, M.V., Juarez, M., Gil, A. y Martínez-Vizcaino, V. (2019). Milk and Dairy Product Consumption and Cardiovascular Diseases: An Overview of Systematic Reviews and Meta-Analyses. *Journal Advances in Nutrition*, 10 (suppl_2), pp: S164-S189.

Franchi, C., Ardoino, I., Bosetti, C., Negri, E., Serraino, D., Crispo, A., Giacosa, A., Fattore, E., Dolci, A., Bravi, F., Turati, F., La Vecchia, C. y D'Avanzo, B. (2022). Inverse Association between Canned Fish Consumption and Colorectal Cancer Risk: Analysis of Two Large Case-Control Studies. *Nutrients*, 14 (8), pp: 1663.

Fresán, U., Martínez-González, M., Sabaté, J y Bes-Rastrollo, M. (2018). The Mediterranean diet, an environmentally friendly option: Evidence from the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) cohort. *Public Health Nutrition*, 21 (8), pp: 1573-1582.

Fried, L.P. y Rowe, J.W. (2020). Health in Aging - Past, Present, and Future. *The New England Journal of Medicine*, 383 (14), pp: 1293-1296.

Gaesser, G.A. (2020). Whole Grains, Refined Grains, and Cancer Risk: A Systematic Review of Meta-Analyses of Observational Studies. *Nutrients*, 12 (12), pp: 3756.

Gaesser, G.A. (2022). Refined grain intake and risk of type 2 diabetes. *Mayo Clinic Proceedings*, 97 (8), pp: 1428-1436.

García, M.Á., Núñez, R., Alonso, J. y Melgar, M.J. (2016). Total mercury in fresh and processed tuna marketed in Galicia (NW Spain) in relation to dietary exposure. *Environmental science and pollution research international*, 23 (24), pp: 24960-24969.

García-Solano, M., Gutiérrez-González, E., López-Sobaler, A.M., Ruiz-Álvarez, M., Bermejo López, L.M., Aparicio, A., García-López, M.A., Yusta-Boyo, M.J., Robledo de Dios, T., Villar Villalba, C. y Dal Re Saavedra, M.A. (2021). Situación ponderal de la población escolar de 6 a 9 años en España: resultados del estudio ALADINO 2019. *Nutrición Hospitalaria*, 38 (5), pp: 943-953.

GBD (2018). Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*, 392 (10159), pp: 1736-1788.

George, E.S., Marshall, S., Mayr, H.L., Trakman, G.L., Tatucu-Babet, O.A., Lassemillante, A.M., Bramley, A., Reddy, A.J., Forsyth, A., Tierney, A.C., Thomas, C.J., Itsiopoulos, C. y Marx, W. (2019). The effect of high-polyphenol extra virgin olive oil on cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59 (17), pp: 2772-2795.

Gephart, J.A., Henriksson, P.J.G., Parker, R.W.R., Shepon, A., Gorospe, K.D., Bergman, K., Eshel, G., Golden, C.D., Halpern, B.S., Hornborg, S., Jonell, M., Metian, M., Mifflin, K., Newton, R., Tyedmers, P., Zhang, W., Ziegler, F. y Troell, M. (2021). Environmental performance of blue foods. *Nature*, 597 (7876), pp: 360-365.

Giosuè, A., Calabrese, I., Lupoli, R., Riccardi, G., Vaccaro, O. y Vitale, M. (2022). Relations Between the Consumption of Fatty or Lean Fish and Risk of Cardiovascular Disease and All-cause Mortality: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal Advances in Nutrition*, nmac006.

Głąbska, D., Guzek, D., Groele, B. y Gutkowska, K. (2020). Fruit and Vegetable Intake and Mental Health in Adults: A Systematic Review. *Nutrients*, 12 (1), pp: 115.

González-García, S., Green, R.F., Scheelbeek, P.F., Harris, F. y Dangour, A.D. (2020). Dietary recommendations in Spain -affordability and environmental sustainability? *The Journal of Cleaner Production*, 254, pp: 120125.

Grandjean, P., Weihe, P., White, R.F., Debes, F., Araki, S., Yokoyama, K., Murata, K., Sørensen, N., Dahl, R. y Jørgensen, P.J. (1997). Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicology and Teratology*, 19 (6), pp: 417-428.

Guasch-Ferré, M., Satija, A., Blondin, S.A., Janiszewski, M., Emlen, E., O'Connor, L.E., Campbell, W.W., Hu, F.B., Willett, W.C. y Stampfer, M.J. (2019). Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials of Red Meat Consumption in Comparison with Various Comparison Diets on Cardiovascular Risk Factors. *Circulation*, 139 (15), pp: 1828-1845.

Guasch-Ferré, M., Liu, G., Li, Y., Sampson, L., Manson, J.E., Salas-Salvadó, J., Martínez-González, M.A., Stampfer, M.J., Willett, W.C., Sun, Q. y Hu, F.B. (2020). Olive Oil Consumption and Cardiovascular Risk in U.S. Adults. *Journal of the American College of Cardiology*, 75 (15), pp: 1729-1739.

Guasch-Ferré, M., Li, Y., Willett, W.C., Sun, Q., Sampson, L., Salas-Salvadó, J., Martínez-González, M.A., Stampfer, M.J. y Hu, F.B. (2022). Consumption of Olive Oil and Risk of Total and Cause-Specific Mortality Among U.S. Adults. *Journal of the American College of Cardiology,* 79 (2), pp: 101-112.

Gunathilake, M., Thi Hong Van, N. y Kim, J. (2022). Effects of nut consumption on blood lipid profile: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 32 (3), pp: 537-549.

Hadi, A., Asbaghi, O., Kazemi, M., Haghighian, H.K., Pantovic, A., Ghaedi, E. y Zadeh, F.A. (2021). Consumption of pistachio nuts positively affects lipid profiles: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, pp: 1-14.

Hibbeln, J.R., Davis, J.M., Steer, C., Emmett, P., Rogers, I., Williams, C. y Golding, J. (2007). Maternal seafood consumption in pregnancy and neurodevelopmental outcomes in childhood (ALSPAC study): an observational cohort study. *The Lancet*, 369 (9561), pp: 578-585.

Ho, S.C., Yeo, W., Goggins, W., Kwok, C., Cheng, A., Chong, M., Lee, R. y Cheung, K.L. (2021). Pre-diagnosis and early post-diagnosis dietary soy isoflavone intake and survival outcomes: A prospective cohort study of early stage breast cancer survivors. *Cancer Treatment and Research Communications*, 27, pp: 100350.

HSPH (2022a). Harvard T.H. Chan School of Public Health. The Nutrition Source/What Should I Eat? /Whole Grain. Disponible en: https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/what-should-you-eat/whole-grains/ [acceso: 06-07-22].

HSPH (2022b). Havard TH. Chan School of Public Health. The Nutrition Source. Straight Talk About Soy. Disponible en: https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/soy/ [acceso: 26-07-22].

HSPH (2022c). Nutrition Source (2022). Harvard T.H. Chan School of Public Health. Omega-3 Fatty Acids: An Essential Contribution. Disponible en: https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/what-should-you-eat/fats-and-cholesterol/types-of-fat/omega-3-fats/ [acceso: 7-06-22].

HSPH (2022d). Harvard TH. Chan School of Public Health. The Nutrition Source. Daily sugary drink habit increases risk of type 2 diabetes, heart attack, stroke. Dsiponible en: https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/dairy/ [acceso: 26-07-22].

HSPH (2022e). The Nutrition Source. New "guidelines" say continue red meat consumption habits, but recommendations contradict evidence. Disponible en: https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/2019/09/30/flawed-guidelines-red-processed-meat/ [acceso: 26-07-22].

Hu, F.B., Stampfer, M.J., Rimm, E.B., Manson, J.E., Ascherio, A., Colditz, G.A., Rosner, B.A., Spiegelman, D., Speizer, F.E., Sacks, F.M., Hennekens, C.H. y Willett, W.C. (1999). A prospective study of egg consumption and risk of cardiovascular disease in men and women. *Journal of the American Medical Association (JAMA)*, 281 (15), pp: 1387-1394.

Hu. Y., Ding, M., Sampson, L., Willett, W.C., Manson, J.E., Wang, M., Rosner, B., Hu, F.B. y Sun, Q. (2020). Intake of whole grain foods and risk of type 2 diabetes: results from three prospective cohort studies. *The British Medical Journal*, 370, m2206.

Hu, Y., Willett, W.C., Manson, J.A.E., Rosner, B., Hu, F.B. y Sun, Q. (2022). Intake of whole grain foods and risk of coronary heart disease in US men and women. *BMC Medicine*, 20 (1), pp: 192.

Huang, J., Liao, L.M., Weinstein, S.J., Sinha, R., Graubard, B.I. y Albanes, D. (2020). Association Between Plant and Animal Protein Intake and Overall and Cause-Specific Mortality. *JAMA Internal Medicine*, 180 (9), pp: 1173-1184.

IARC Working Group (2018). International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyion 2018. Disponible en: https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono114.pdf [acceso: 26-07-22].

Ibsen, D.B., Steur, M., Imamura, F., Overvad, K., Schulze, M.B., Bendinelli, B., Guevara, M., Agudo, A., Amiano, P., Aune, D., Barricarte, A., Ericson, U., Fagherazzi, G., Franks, P.W., Freisling, H., Quiros, J.R., Grioni, S., Heath, A.K., Huybrechts, I., Katze, V., Laouali, N., Mancini, F., Masala, G., Olsen, A., Papier, K., Ramne, S., Rolandsson, O., Sacerdote, C., Sánchez, M.J., Santiuste, C., Simeon, V., Spijkerman, A.M.W., Srour, B., Tjønneland, A., Tong, T.Y.N., Tumino, R., van der Schouw, Y.T., Weiderpass, E., Wittenbecher, C., Sharp, S.J., Riboli, E., Forouhi, N.G. y Wareham, N.J. (2020). Replacement of Red and Processed Meat with Other Food Sources of Protein and the Risk of Type 2 Diabetes in European Populations: The EPIC-InterAct Study. *Diabetes Care*, 43 (11), pp: 2660-2667.

INE (2020). Instituto Nacional de Estadística. Proyecciones de población 2020-2070. Nota de prensa 22 de septiembre de 2020. Disponible en: https://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/operacion.htm?c=Estadistica_C&cid=1254736176953&menu=ultiDatos&idp=1254735572981 [acceso: 26-07-22].

INE (2021). Instituto Nacional de Estadística. Defunciones según la causa de muerte. Año 2020. Nota de prensa 10 de noviembre de 2021. Disponible en: https://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/operacion.htm?c=Estadistica_C&cid=1254736176780&menu=ultiDatos&idp=1254735573175 [acceso: 26-07-22].

IPCC (2022). Intergovernmental Panel for Climate Change (IPCC). Climate Change 2022: Mitigation of Climate Change. Disponible en: https://report.ipcc.ch/ar6wg3/pdf/IPCC_AR6_WGIII_FinalDraft_FullReport.pdf [acceso: 26-07-22].

Jayedi, A. y Shab-Bidar, S. (2020). Fish Consumption and the Risk of Chronic Disease: An Umbrella Review of Meta-Analyses of Prospective Cohort Studies. *Journal Advances in Nutrition*, 11 (5), pp: 1123-1133.

Jayedi, A., Gohari, A. y Shab-Bidar, S. (2022). Daily Step Count and All-Cause Mortality: A Dose-Response Meta-analysis of Prospective Cohort Studies. *Sports Medicine*, 52, pp: 89-99.

Jiang, Y.T. Zhang, J.Y., Liu, Y.S., Chang, Q., Zhao, Y.H. y Wu, Q.J. (2020). Relationship between legume consumption and metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 30 (3), pp: 384-392.

Jiang, L., Wang, J., Xiong, K., Xu, L., Zhang, B. y Ma, A. (2021). Intake of Fish and Marine n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Risk of Cardiovascular Disease Mortality: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Nutrients*, 13 (7), pp: 2342.

Jin, S., Kim, Y. y Je, Y. (2020). Dairy Consumption and Risks of Colorectal Cancer Incidence and Mortality: A Meta-analysis of Prospective Cohort Studies. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 29 (11), pp: 2309-2322.

Jin, S. y Je, Y. (2021). Dairy Consumption and Total Cancer and Cancer-Specific Mortality: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Journal Advances in Nutrition*, nmab135.

Katzmarzyk, P.T., Church, T.S., Craig, C.L. y Bouchard, C. (2009). Sitting time and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer. *Medicine and Science in Sports and Exercise,* 41 (5), pp: 998-1005.

Khalili, L., Elhassan A-Elgadir, T.M., Khurram Mallick, A., El Enshasy, H.A. y Sayyed, R.Z. (2022). Nuts as a Part of Dietary Strategy to Improve Metabolic Biomarkers: A Narrative Review. *Frontiers in Nutrition*, 9, pp: 881843.

Knuppel, A., Papier, K., Fensom, G.K., Appleby, P.N., Schmidt, J.A., Tong, T.Y.N., Travis, R.C., Key, T.J. y Perez-Cornago, A. (2020). Meat intake and cancer risk: prospective analyses in UK Biobank. *International Journal of Epidemiology*, 49 (5) pp: 1540-1552.

Kontis, V., Bennett, J.E., Mathers, C.D., Li, G., Foreman, K. y Ezzati, M. (2017). Future life expectancy in 35 industrialised countries: projections with a Bayesian model ensemble. *The Lancet*, 389 (10076), pp: 1323-1335.

Kratz, M. (2005). Dietary cholesterol, atherosclerosis and coronary heart disease. *Handbook of Experimental Pharmacology*, (170) pp: 195-213.

Kris-Etherton, P.M. y Krauss, R.M. (2020). Public health guidelines should recommend reducing saturated fat consumption as much as possible: YES. *American Journal of Clinical Nutrition*, 112 (1) pp: 13-18.

Liu, G., Guasch-Ferré, M., Hu, Y., Li, Y., Hu, F.B., Rimm, E.B., Manson, J.E., Rexrode, K.M. y Sun, Q. (2019). Nut Consumption in Relation to Cardiovascular Disease Incidence and Mortality Among Patients With Diabetes Mellitus. *Circulation Research*, 124 (6), pp: 920-929.

Long, J., Ji, Z., Yuan, P., Long, T., Liu, K., Li, J. y Cheng, L. (2020). Nut Consumption and Risk of Cancer: A Meta-analysis of Prospective Studies. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 29 (3), pp: 565-573.

Lorenzo, P.M., Izquierdo, A.G., Rodriguez-Carnero, G., Pombo, A.F., Iglesias, A., Carreira, M.C., Tejera, C., Bellido, D., Martinez-Olmos, M.A., Leis, R., Casanueva, F.F. y Crujeiras, A.B. (2022). Epigenetic Effects of Healthy Foods and Lifestyle Habits From The Southern European Atlantic Diet Pattern: A Narrative Review. *Journal Advances in Nutrition*, nmac038.

Lukus, P.K., Doma, K.M. y Duncan, A.M. (2020). The Role of Pulses in Cardiovascular Disease Risk for Adults With Diabetes. *American Journal Lifestyle Medicine*, 14 (6), pp: 571-584.

Ma, L., Liu, G., Ding, M., Zong, G., Hu, F.B., Willett, W.C., Rimm, E.B., Manson, J.E. y Sun, Q. (2020). Isoflavone intake and the risk of coronary heart disease in US men and women: results from 3 prospective cohort studies. *Circulation*, 141 (14), pp: 1127-1137.

Ma, W., Zhang, Y., Pan, L., Wang, S., Xie, K., Deng, S., wWng, R., Guo, C., Qin, P., Wu, X., Wu, Y., Zhao, Y., Feng, Y. y Hu, F. (2022). Association of Egg Consumption with Risk of All-Cause and Cardiovascular Disease Mortality: A Systematic Review and Dose–Response Meta-analysis of Observational Studies, *The Journal of Nutrition*, nxac105.

Malik, V.S. y Hu, F.B. (2019). Sugar-sweetened beverages and cardiometabolic health: an update of the evidence. *Nutrients*, 11, pp: 1840.

Mangano, K.M., Sahni, S., Kiel, D.P., Tucker, K.L., Dufour, A.B. y Hannan, M.T. (2017). Dietary protein is associated with musculoskeletal health independently of dietary pattern: the Framingham Third Generation Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 105 (3), pp: 714-722.

Markellos, C., Ourailidou, M.E., Gavriatopoulou, M., Halvatsiotis, P., Sergentanis, T.N. y Psaltopoulou, T. (2022). Olive oil intake and cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 17 (1), pp: e0261649.

Martini, D., Godos, J., Marventano, S., Tieri, M., Ghelfi, F., Titta, L., Lafranconi, A., Trigueiro, H., Gambera, A., Alonzo, E., Sciacca, S., Buscemi, S., Ray, S., Galvano, F., Del Rio, D. y Grosso, G. (2021). Nut and legume consumption and human health: an umbrella review of observational studies. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 72 (7), pp: 871-878.

MCD (2021). Ministerio de Cultura y Deporte. Encuesta de hábitos deportivos en España 2020. Disponible en: https://www.culturaydeporte.gob.es/dam/jcr:07b62374-bfe9-4a65-9e7e-03a09c8778c3/encuesta-de-habitos-deportivos-2020.pdf [acceso: 26-07-22].

Mendivil, C.O. (2021). Fish Consumption: A Review of Its Effects on Metabolic and Hormonal Health. *Nutrition and Metabolic Insights*, 14, pp: 11786388211022378.

Ministerio de Consumo/JRC (2022). Ministerio de Consumo/Centro Común de Investigación (Joint Research Centre) de la Comision Europea (EC-JRC), Sostenibilidad del consumo en España. Evaluación del impacto ambiental asociado a los patrones de consumo mediante Análisis del Ciclo de Vida, Ministerio de Consumo, Madrid, 2022. Disponible en: https://www.consumo.gob.es/es/system/tdf/prensa/Informe_de_Sostenibilidad_del_consumo_en_Espan%CC%83a_EU_MinCon.pdf?file=1&type=node&id=1126&force= [acceso: 1-06-22].

Mohan, D., Mente, A., Dehghan, M., Rangarajan, S., O'Donnell, M., Hu, W., Dagenais, G., Wielgosz, A., Lear, S., Wei, L., Diaz, R., Avezum, A., Lopez-Jaramillo, P., Lanas, F., Swaminathan, S., Kaur, M., Vijayakumar, K., Mohan, V., Gupta, R., Szuba, A., Iqbal, R., Yusuf, R., Mohammadifard, N., Khatib, R., Yusoff, K., Gulec, S., Rosengren, A., Yusufali, A., Wentzel-Viljoen, E., Chifamba, J., Dans, A., Alhabib, K.F., Yeates, K., Teo, K., Gerstein, H.C., Yusuf, S., PURE, ONTARGET, TRANSCEND, y ORIGIN investigators (2021). Associations of Fish Consumption With Risk of Cardiovascular Disease and Mortality Among Individuals With or Without Vascular Disease From 58 Countries. *JAMA Internnal Medicine*, 181 (5), pp: 631-649.

Moradi, M., Daneshzad, E. y Azadbakht, L. (2020). The effects of isolated soy protein, isolated soy isoflavones and soy protein containing isoflavones on serum lipids in postmenopausal women: A systematic review and meta-analysis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (20), pp: 3414-3428.

Moran, M. (2020). La Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible. Desarrollo Sostenible. Disponible en: https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/development-agenda/ [acceso: 1-06-22].

Mousavi, S.M., Zargarzadeh, N., Rigi, S., Persad, E., Pizarro, A.B., Hasani-Ranjbar, S., Larijani, B., Willett, W.C. y Esmaillzadeh, A. (2022). Egg Consumption and Risk of All-Cause and Cause-Specific Mortality: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. *Advances in Nutrition*, nmac040.

MSSSI (2014). Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Estrategia de Promoción de la Salud y Prevención en el SNS. Informes, Estudios e Investigación, 2014.

MSSSI (2015). Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Actividad Física para la Salud y Reducción del Sedentarismo. Recomendaciones para la población. Estrategia de Promoción de la Salud y Prevención en el SNS. Madrid, 2015.

Nachvak, S.M., Moradi, S., Anjom-Shoae, J., Rahmani, J., Nasiri, M., Maleki, V. y Sadeghi, O. (2019). Soy, soy isoflavones, and protein intake in relation to mortality from all causes, cancers, and cardiovascular diseases: a systematic review and dose–response meta-analysis of prospective cohort studies. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 119 (9), pp: 1483-500.

Naghshi, S., Sadeghian, M., Nasiri, M., Mobarak, S., Asadi, M. y Sadeghi. O. (2021). Association of Total Nut, Tree

Nut, Peanut, and Peanut Butter Consumption with Cancer Incidence and Mortality: A Comprehensive Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis of Observational Studies. *Journal Advances in Nutrition*, 12 (3), pp: 793-808.

OMS (1948). Organización Mundial de la Salud (OMS). Constitution of the World Health Organization. Disponible en: http://www.who.int/governance/eb/who_constitution_en.pdf [acceso: 26-07-22].

OMS (2010). Organización Mundial de la Salud. Recomendaciones mundiales sobre actividad física para la salud. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44441/9789243599977_spa.pdf?sequence=1 [acceso: 7-06-22].

OMS (2014). Organización Mundial de la Salud. Guideline: Fortification of food-grade salt with iodine for the prevention and control of iodine deficiency disorders. Geneva, 2014. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/136908/9789241507929_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y [acceso: 06-07-22].

OMS (2020). World Health Organization. WHO guidelines on physical activity and sedentary behaviour. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336656/9789240015128-eng.pdf [acceso: 7-06-22].

OMS (2021a). Organización Mundial de la Salud. Directrices de la OMS sobre actividad física y comportamientos sedentarios. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/337004/9789240014817-spa.pdf [acceso: 7-06-22].

OMS (2021b). Organización Mundial de la Salud. Action framework for developing and implementing public food procurement and service policies for a healthy diet. Geneva: World Health Organization. Disponible en: https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240018341 [acceso: 06-07-22].

OMS (2022). Organización Mundial de la Salud. Obesity European Report 2022. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/353747/9789289057738-eng.pdf [acceso: 06-07-22].

OMS/FAO (2003). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Informe de una Consulta Mixta de Expertos. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42755/WHO_TRS_916_spa.pdf;jsessionid=4DE09F173DC34E2B-2953DA7C3037530E?sequence=1 [acceso: 9-06-22].

Ortolá, R., García-Esquinas, E., García-Varela, G., Struijk, E.A., Rodríguez-Artalejo, F. y López-García, E. (2019). Influence of Changes in Diet Quality on Unhealthy Aging: The Seniors-ENRICA Cohort. *American Journal Medical*, 132 (9), pp: 1091-1102.e9.

PAHO (2019). Organización Panamericana de la Salud. Directrices sobre la actividad física, el comportamiento sedentario y el sueño para menores de 5 años. Washington. Disponible en: http://iris.paho.org [acceso: 26-07-22].

Paluch, A.E., Paluch, A.E., Bajpai, S., Bassett, D.R., Carnethon, M.R., Ekelund, U., Evenson, K.R., Galuska, D.A., Jefferis, B.J., Kraus, W.E., Lee, I.M., Matthews, C.E., Omura, J.D., Patel, A.V., Pieper,C.F., Rees-Punia, E., Dallmeier, D., Klenk, J., Whincup, P.H., Dooley, E.E., Gabrie, K.P., Palta, P., Pompeii, L.A., Chernofsky, A., Larson, M.G., Vasan, R.S., Spartano, N., Ballin, M., Nordström, P., Nordström, A., Anderssen, S.A., Hansen, B.H., Cochrane, J.A., Dwyer, T., Wang, J., Ferrucci, L., Liu, F., Schrack, J., Urbanek, J., Saint-Maurice, P.F., Yamamoto, N., Yoshitake, Y., Newton, Jr.R.L., Yang, S., Shiroma, E.J. y Fulton, J.E. (2022). Daily steps and all-cause mortality: a meta-analysis of 15 international cohorts. *The Lancet Public Health*, 7, pp: e219-e228.

Papanikolaou, Y. y Fulgoni, V.L.3rd. (2008). Bean consumption is associated with greater nutrient intake, reduced systolic blood pressure, lower body weight, and a smaller waist circumference in adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Journal American College of Nutricion*, 27 (5), pp: 569-576.

Parilli-Moser, I., Hurtado-Barroso, S., Guasch-Ferré, M. y Lamuela-Raventós R.M. (2022). Effect of Peanut Consumption on Cardiovascular Risk Factors: A Randomized Clinical Trial and Meta-Analysis. *Frontiers in Nutrition*, 9, pp: 853378.

Pearce, M., Fanidi, A., Bishop, T.R.P., Sharp, S.J., Imamura, F., Dietrich, S., Akbaraly, T., Bes-Rastrollo, M., Beulens, J.W.J., Byberg, L., Canhada, S., Molina, M.C.B., Chen, Z., Cortes-Valencia, A., Du. H., Duncan, B.B., Härkänen,

T., Hashmian, M., Kim, J., Kim, M.K., Kim, Y., Knekt, P., Kromhout, R., Lassale, C., López Riduera, R., Magliano, D.J., Malekzadeh, R., Marques-Vidal, P., Martínez-González, M.A., O´Donoghue, G., O´Gorman, D., Shaw, J.E., Soedamah-Muthu, S.S., Stern, D., Wolk, A., Won Woo, H., EPIC-InterAct Consortium, Wareham, N.J. y Forouhi, N.G. (2021). Associations of Total Legume, Pulse, and Soy Consumption with Incident Type 2 Diabetes: Federated Meta-Analysis of 27 Studies from Diverse World Regions. *Journal of Nutrition*, 151 (5), pp: 1231-1240.

PNCOCA (2021-2025). Plan Nacional de Control Oficial de la Cadena Alimentaria (PNCOCA) 2021-2025. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/pncoca/2021-2025/DOC_4_ PNCOCA_2021_2025_Espana.pdf [acceso: 22-07-21].

Poore, J. y Nemecek, T. (2018). Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. *Science*, 360 (6392), pp: 987-992.

Qian, F., Riddle, M.C., Wylie-Rosett, J. y Hu, F.B. (2020). Red and Processed Meats and Health Risks: How Strong Is the Evidence? *Diabetes Care*, 43 (2), pp: 265-271.

Reynolds, A.N., Akerman, A.P. y Mann, J. (2020). Dietary fibre and whole grains in diabetes management: Systematic review and meta-analyses. *PLoS Med*, 17 (3), pp: e1003053.

Rezaei, S., Akhlaghi, M., Sasani, M.R. y Barati Boldaji, R. (2019). Olive oil lessened fatty liver severity independent of cardiometabolic correction in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized clinical trial. *Nutrition*, 57 pp: 154-161.

Roager, H.M., Vogt, J.K., Kristensen, M., Hansen, L.B.S., Ibrügger, S., Mærkedahl, R.B., Bahl, M.L., Lind, M.V., Nielsen, R.L., Frøkiær, H., Gøbel, R.J., Landberg, R., Ross, A.B., Brix, S., Holck, J., Meyer, A.S., Sparholt, M.H., Christensen, A.F., Carvalho, V., Hartmann, B., Holst, J.J., Rumessen, J.J., Linneberg, A., Sicheritz-Pontén, T., Dalgaard, M.D., Blennow, A., Frandsen, H.L., Villas-Bôas, S., Kristiansen, K., Vestergaard, H., Hansen, T., Ekstrøm, C.T., Ritz, C., Nielsen, H.B., Pedersen, O.B., Gupta, R.A., Lauritzen, L. y Licht, T.R. (2019). Whole grain-rich diet reduces body weight and systemic low-grade inflammation without inducing major changes of the gut microbiome: a randomised cross-over trial. *Gut*, 68 (1), pp: 83-93.

Roman-Viñas, B., Marin, J., Sánchez-López, M., Aznar, S., Leis, R., Aparicio-Ugarriza, R., Schroder, H., Ortiz-Moncada, R., González-Gross, M.M. y Serra-Majem, L. (2016). Results from Spain's 2016 report card on physical activity for children and youth. *Journal of Physical Activity & Health*, 13 (s2), pp: S279-283.

Roman-Viñas, B., Zazo, F., Martínez-Martínez, J., Aznar-Laín, S. y Serra-Majem, L. (2018). Results from Spain's 2018 report card on physical activity for children and youth. *Journal of Physical Activity & Health,* 15 (s2), pp: s411-s412.

Sáez-Almendros, S., Obrador, B., Bach-Faig, A. y Serra-Majem, L. (2013). Environmental footprints of Mediterranean versus Western dietary patterns: beyond the health benefits of the Mediterranean diet. *Environ Health*, 12 pp: 118.

Sakaue, A., Adachi, H., Enomoto, M., Fukami, A., Kumagai, E., Nakamura, S., Nohara, Y., Kono, S., Nakao, E., Morikawa, N., Tsuru, T., Hamamura, H., Yoshida, N. y Fukumoto, Y (2020). Association between physical activity, occupational sitting time and mortality in a general population: An 18-year prospective survey in Tanushimaru, Japan. *European Journal of Preventive Cardiology,* 27 (7), pp: 758-766.

Sawicki, C.M., Jacques, P.F., Lichtenstein, A.H., Rogers, G.T., Ma, J., Saltzman, E. y McKeown, N.M. (2021). Whole- and Refined-Grain Consumption and Longitudinal Changes in Cardiometabolic Risk Factors in the Framingham Offspring Cohort. *Journal of Nutrition,* 151 (9), pp: 2790-2799.

Schröder, H., Fitó, M., Estruch, R., Martínez-González, M.A., Corella, D., Salas-Salvadó, J., Lamuela-Raventós, R., Ros, E., Salaverría, I., Fiol, M., Lapetra, J., Vinyoles, E., Gómez-Gracia, E., Lahoz, C., Serra-Majem, L., Pintó, X., Ruiz-Gutierrez, V. y Covas, M.I. (2011). A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *Journal of Nutrition*, 141 (6), pp: 1140-1145.

Schwingshackl, L., Hoffmann, G., Lampousi, A.M., Knüppel, S., Iqbal, K., Schwedhelm, C., Bechthold, A., Schlesinger, S. y Boeing, H. (2017a). Food groups and risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *European Journal Epidemiology*, 32 (5), pp: 363-375.

Schwingshackl, L., Lampousi, A.M., Portillo, M.P., Romaguera, D., Hoffmann, G. y Boeing, H. (2017b). Olive oil in

the prevention and management of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of cohort studies and intervention trials. *Nutrition and Diabetes*, 7 (4), pp: e262.

Sealy, N., Hankinson, S.E. y Houghton, S.C. (2021). Olive oil and risk of breast cancer: a systematic review and dose-response meta-analysis of observational studies. *British Journal of Nutrition*, 125 (10), pp: 1148-1156.

SEGG (2011). Sociedad Española de Geriatría y Gerontología. Guía de buena práctica clínica en Geriatría. Hidratación y Salud. Disponible en: https://www.segg.es/media/descargas/Gu%C3%ADa%20de%20buena%20pr%C3%A1ctica%20cl%C3%ADnica%20en%20Geriatr%C3%ADa%20-%20Hidrataci%C3%B3n%20y%20salud.pdf [acceso: 14-07-22].

SENC (2016). Sociedad Española de Nutrición Comunitaria. Guías alimentarias para la población española. Disponible en: https://www.nutricioncomunitaria.org/es/noticia-documento/43 [acceso: 14-07-22].

SENC-Aranceta-Bartrina, J., Partearroyo T., López-Sobaler A.M., Ortega, R.M., Varela-Moreiras, G., Serra-Majem, L., Pérez-Rodrigo, C. y The Collaborative Group for the Dietary Guidelines for the Spanish Population (SENC) (2019). Updating the Food-Based Dietary Guidelines for the Spanish Population: The Spanish Society of Community Nutrition (SENC) Proposal. *Nutrients*, 11, 2675, pp: 1-27.

Serra-Majem, L., Tomaino, L., Dernini, S., Berry, E.M., Lairon, D., Ngo de la Cruz, J., Bach-Faig, A., Donini, L.M., Medina, F.X., Belahsen, R., Piscopo, S., Capone, R., Aranceta-Bartrina, J., La Vecchia, C. y Trichopoulou, A. (2020). Updating the Mediterranean Diet Pyramid towards Sustainability: Focus on Environmental Concerns. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17 (23), pp: 8758.

Soriano, J.B., Rojas-Rueda, D., Alonso, J., Antó, J.M., Cardona, P.J., Fernández, E., Garcia-Basteiro, A.L., Benavides, F.G., Glenn, S.D., Krish, V., Lazarus, J.V., Martínez-Raga, J., Masana, M.F., Nieuwenhuijsen, M.J., Ortiz, A., Sánchez-Niño, M.D., Serrano-Blanco, A., Tortajada-Girbés, M., Tyrovolas, S., Haro, J.M., Naghavi, M. y Murray, C.J.L. (2018). Colaboradores de GBD en España; The burden of disease in Spain: Results from the Global Burden of Disease 2016. *Medicina Clinica* (Barc), 151 (5), pp: 171-190.

Springmann, M., Clark, M., Mason-D'Croz, D., Wiebe, K., Bodirsky, B.L., Lassaletta, L., de Vries, W., Vermeulen, S.J., Herrero, M., Carlson, K.M., Jonell, M., Troell, M., DeClerck, F., Gordon, L.J., Zurayk, R., Scarborough, P., Rayner, M., Loken, B., Fanzo, J., Godfray, H.C.J., Tilman, D., Rockström, J. y Willett, W. (2018). Options for keeping the food system within environmental limits. *Nature*, 562 (7728), pp: 519-525.

Springmann, M. (2019). Chapter 11 - Can diets be both healthy and sustainable? Solving the dilemma between healthy diets versus sustainable diets. En: J. Sabaté (Ed.), *Environmental Nutrition*, pp: 197-227. Academic Press.

Springmann, M., Spajic, L., Clark, M.A., Poore, J., Herforth, A., Webb, P., Rayner, M. y Scarborough, P. (2020). The healthiness and sustainability of national and global food based dietary guidelines: modelling study. *The British Medical Journal*, 370: m2322.

Steur, M., Johnson, L., Sharp, S.J., Imamura, F., Sluijs, I., Key, T.J., Wood, A., Chowdhury, R., Guevara, M., Jakobsen, M.U., Johansson, I., Koulman, A., Overvad, K., Sánchez, M.J., van der Schouw, Y.T., Trichopoulou, A., Weiderpass, E., Wennberg, M., Zheng, J.S., Boeing, H., Boer, J.M.A., Boutron-Ruault, M.C., Ericson, U., Heath, A.K., Huybrechts, I., Imaz, L., Kaaks, R., Krogh, V., Kühn, T., Kyrø, C., Masala, G., Melander, O., Moreno-Iribas, C., Panico, S., Quirós, J.R., Rodríguez-Barranco, M., Sacerdote, C., Santiuste, C., Skeie, G., Tjønneland, A., Tumino, R., Verschuren, W.M.M., Zamora-Ros, R., Dahm, C.C., Perez-Cornago, A., Schulze, M.B., Tong, T.Y.N., Riboli, E., Wareham, N.J., Danesh, J., Butterworth, A.S. y Forouhi, N.G. (2021). Dietary Fatty Acids, Macronutrient Substitutions, Food Sources and Incidence of Coronary Heart Disease: Findings From the EPIC-CVD Case-Cohort Study Across Nine European Countries. *Journal of the American Heart Association*, 10 (23) pp: e019814.

Struijk, E.A., Fung, T.T., Rodríguez-Artalejo, F., Bischoff-Ferrari, H.A., Hu, F.B., Willett, W.C. y Lopez-Garcia, E. (2022a). Protein intake and risk of frailty among older women in the Nurses' Health Study. *Journal of Cachexia Sarcopenia Muscle*, 13 (3), pp: 1752-1761.

Struijk, E.A., Fung, T.T., Sotos-Prieto, M., Rodriguez-Artalejo, F., Willett, W.C., Hu, F.B. y Lopez-Garcia, E. (2022b). Red meat consumption and risk of frailty in older women. *Journal of Cachexia Sarcopenia Muscle*, 13 (1), pp: 210-219.

Swaminathan, S., Dehghan, M., Raj, J.M., Thomas, T., Rangarajan, S., Jenkins, D., Mony, P., Mohan, V., Lear, S.A., Avezum, A., Lopez-Jaramillo, P., Rosengren, A., Lanas, F., AlHabib, K.F., A. Dans., Keskinler, M.V., Puoane, T., Soman, B., Wei, L., Zatonska, K., Diaz, R., Ismail, N., Chifamba, J., Kelishadi, R., Yusufali, A., Khati, R., Xiaoyun, L., Hu B., Iqbal, R., Yusuf, R., Yeates, K., Teo, K. y Yusuf, S. (2021). Associations of cereal grains intake with cardiovascular disease and mortality across 21 countries in Prospective Urban and Rural Epidemiology study: prospective cohort study. *The British Medical Journal*, 372, pp: m4948.

Tapsell, L.C., Neale, E.P., Satija, A. y Hu, F.B. (2016). Foods, Nutrients, and Dietary Patterns: Interconnections and Implications for Dietary Guidelines. *Journal Advances in Nutrition,* 7 (3), pp: 445-454.

Tudor-Locke, C. y Bassett, D.R. (2004). How many steps/day are enough? Preliminary pedometer indices for public health. *Sports Medicine*. 34, pp: 1-8.

Tudor-Locke, C., Craig, C.L., Aoyagi, Y., Bell, R.C., Croteau, K.A., De Bourdeaudhuij, I., Ewald, B., Gardner, A.W., Hatano, Y., Lutes, L.D., Matsudo, S.M., Ramirez-Marrero, F.A., Rogers, L.Q., Rowe, D.A., Schmidt, M.D., Tully, M.A. y Blair, S.N. (2011). How many steps/day are enough? For older adults and special populations. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, 8, pp: 80.

Tudor-Locke, C., Han, H., Aguiar, E.J., Barreira, T.V., Schuna. Jr.J.M., Kang, M. y Rowe, D.A. (2018). How fast is fast enough? Walking cadence (steps/min) as a practical estimate of intensity in adults: a narrative review. *British Journal of Sports Medicine*, 52, pp: 776-788.

Viguiliouk, E., Glenn, A.J., Nishi, S.K., Chiavaroli, L., Seider, M., Khan, T., Bonaccio, M., Iacoviello, L., Mejia, S.B., Jenkins, D.J.A., Kendall, C.W.C., Kahleová, H., Rahelić, D., Salas-Salvadó, J. y Sievenpiper, J.L. (2019). Associations between Dietary Pulses Alone or with Other Legumes and Cardiometabolic Disease Outcomes: An Umbrella Review and Updated Systematic Review and Meta-analysis of Prospective Cohort Studies. *Journal Advances in Nutrition*, 10 (Suppl_4), pp: S308-S319.

Villanueva, C.M., Garfí, M., Milà, C., Olmos, S., Ferrer, I. y Tonne, C. (2021). Health and environmental impacts of drinking water choices in Barcelona, Spain: A modelling study. *Science of The Total Environment,* 795, pp: 148884.

Villegas, R., Gao, Y.T., Yang, G., Li, H.L., Elasy, T.A., Zheng, W. y Shu, X.O. (2008). Legume and soy food intake and the incidence of type 2 diabetes in the Shanghai Women's Health Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87 (1) pp: 162-167.

Wallace, T.C., Bailey, R.L., Blumberg, J.B., Burton-Freeman, B., Chen, C.O., Crowe-White, K.M., Drewnowski, A., Hooshmand, S., Johnson, E., Lewis, R., Murray, R., Shapses, S.A. y Wang, D.D. (2020). Fruits, vegetables, and health: A comprehensive narrative, umbrella review of the science and recommendations for enhanced public policy to improve intake. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (13), pp: 2174-2211.

Wang, T., Zhan, R., Lu, J., Zhong, L., Peng, X., Wang, M. y Tang S. (2020). Grain consumption and risk of gastric cancer: a meta-analysis. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 71 (2), pp: 164-175.

Wang, D.D., Li, Y., Bhupathiraju, S.N., Rosner, B.A., Sun, Q., Giovannucci, E.L., Rimm, E.B., Manson, J.E., Willett. W.C., Stampfer, M.J. y Hu, F.B. (2021a). Fruit and Vegetable Intake and Mortality: Results From 2 Prospective Cohort Studies of US Men and Women and a Meta-Analysis of 26 Cohort Studies. *Circulation*, 143 (17), pp: 1642-1654.

Wang, X., Yu, C., Lv, J., Li, L., Hu, Y., Liu, K., Shirai, K., Iso, H. y Dong, J.Y (2021b). Consumption of soy products and cardiovascular mortality in people with and without cardiovascular disease: a prospective cohort study of 0.5 million individuals. *European Journal of Nutrition*, 60 (8), pp: 4429-4438.

Webster, T. y Aznar, S. (2008). Intensity of Physical Activity and The talk test: A Brief Review and Practical Application. *ACSM's Health & Fitness Journal*, 12 (3), pp: 12-17.

Willett, W. (2013). En libro: *Nutritional Epidemiology*. 3rd edition. New York: Oxford University Press, 2013.

Willett, W., Rockström, J., Loken, B., Springmann, M., Lang, T., Vermeulen, S., Garnett, T., Tilman, D., DeClerck, F., Wood, A., Jonell, M., Clark, M., Gordon, L.J., Fanzo, J., Hawkes, C., Zurayk, R., Rivera, J.A., De Vries, W., Majele, Sibanda. L., Afshin, A., Chaudhary, A., Herrero, M., Agustina, R., Branca, F., Lartey, A., Fan, S., Crona, B., Fox, E., Bignet, V., Troell, M., Lindahl, T., Singh, S., Cornell, S.E., Srinath Reddy, K., Narain, S., Nishtar, S. y Murray, C.J.L.

(2019). Food in the Anthropocene: the EAT-Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *The Lancet*, 393 (10170), pp: 447-492.

Willett, W.C. y Ludwig, D.S. (2020). Milk and Health. *The New England Journal of Medicine*, 382 (7), pp: 644-654.

Willett, W.C., Hu, F.B., Rimm, E.B. y Stampfer, M.J. (2021). Building better guidelines for healthy and sustainable diets. *American Journal of Clinical Nutrition*, 114 (2), pp: 401-404.

Würtz, A.M.L., Jakobsen, M.U., Bertoia, M.L., Hou, T., Schmidt, E.B., Willett, W.C., Overvad, K., Sun, Q., Manson, J.E., Hu, F.B. y Rimm, E.B. (2021). Replacing the consumption of red meat with other major dietary protein sources and risk of type 2 diabetes mellitus: a prospective cohort study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 113 (3), pp: 612-621.

Yeh, T.S., Yuan, C., Ascherio, A., Rosner, B.A., Blacker, D. y Willett, W.C. (2022). Long-term dietary protein intake and subjective cognitive decline in US men and women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 115 (1), pp: 199-210.

Yin, J., Zhu, Y., Malik, V.S., Li, X., Peng, X., Zhang, F.F., Shan, Z. y Liu, L. (2021). Intake of sugar-sweetened and low-calorie sweetened beverages and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis and systematic review. *Journal Advances in Nutrition*, 12, pp: 89-101.

Zamora Zamora, F., Martínez Galiano, J.M., Gaforio Martínez, J.J. y Delgado Rodríguez, M. (2018). Aceite de oliva y peso corporal. Revisión sistemática y metaanálisis de ensayos controlados aleatorizados [Olive Oil and Body Weight. Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials]. *Revista Española de Salud Publica*, 92, pp: e201811083.

Zeraatkar, D., Han, M.A., Guyatt, G.H., Vernooij, R.W.M., El Dib, R., Cheung, K., Milio, K., Zworth, M., Bartoszko, J.J., Valli, C., Rabassa, M., Lee, Y., Zajac, J., Prokop-Dorner, A., Lo, C., Bala, M.M., Alonso-Coello, P., Hanna, S.E. y Johnston, B.C. (2019). Red and Processed Meat Consumption and Risk for All-Cause Mortality and Cardiometabolic Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis of Cohort Studies. *Annals of Internal Medicine*, 171 (10), pp: 703-710.

Zhang, D., Dai, C, Zhou, L., Li, Y., Liu, K., Deng, Y.J., Li, N., Zheng, Y., Hao, Q., Yang, S., Song, D., Wu, S., Zhen, Z., Cao, S. y Zhuijun, D. (2020). Meta-analysis of the association between nut consumption and the risks of cancer incidence and cancer-specific mortality. *Aging* (Albany NY), 12 (11), pp: 10772-10794.

Zhang, H., Greenwood, D.C., Risch, H.A., Bunce, D., Hardie, L.J. y Cade, J.E. (2021). Meat consumption and risk of incident dementia: cohort study of 493,888 UK Biobank participants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 114 (1), pp: 175-184.

Zhao, T.T., Jin, F., Li, J.G., Xu, Y.Y., Dong, H.T., Liu, Q., Xing, P., Zhu, G.L., Xu, H. y Miao, Z.F. (2019). Dietary isoflavones or isoflavone-rich food intake and breast cancer risk: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Clinical nutrition*, 38 (1), pp: 136-145.

Zheng, Y., Li, Y., Satija, A., Pan, A., Sotos-Prieto, M., Rimm, E., Willett, W.C. y Hu, F.B. (2019). Association of changes in red meat consumption with total and cause specific mortality among US women and men: two prospective cohort studies. *The British Medical Journal,* 365, pp: l2110.

Zheng, J.S., Sharp, S.J., Imamura, F., Chowdhury, R., Gundersen, T.E., Steur, M., Sluijs, I., van der Schouw, Y.T., Agudo, A., Aune, D., Barricarte, A., Boeing, H., Chirlaque, M.D., Dorronsoro, M., Freisling, H., El-Fatouhi, D., Franks, P.W., Fagherazzi, G., Grioni, S., Gunter, M.J., Kyrø, C., Katzke, V., Kühn, T., Khaw, K.T., Laouali, N., Masala, G., Nilsson, P.M., Overvad, K., Panico, S., Papier, K., Quirós, J.R., Rolandsson, O., Redondo-Sánchez, D., Ricceri, F., Schulze, M.B., Spijkerman, A.M.W., Tjønneland, A., Tong, T.Y.N., Tumino, R., Weiderpass, E., Danesh, J., Butterworth, A.S., Riboli, E., Forouhi, N.G. y Wareham, N.J. (2020). Association of plasma biomarkers of fruit and vegetable intake with incident type 2 diabetes: EPIC-InterAct case-cohort study in eight European countries. *The British Medical Journal,* 370, pp: m2194.

Zurbau, A., Au-Yeung, F., Blanco Mejia, S., Khan, T.A., Vuksan, V., Jovanovski, E., Leiter, L.A., Kendall, C.W.C., Jenkins, D.J.A. y Sievenpiper, J.L. (2020). Relation of Different Fruit and Vegetable Sources With Incident Cardiovascular Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Journal of the American Heart Association,* 9 (19), pp: e017728.

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la seguridad del uso de dos soluciones acuosas de peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido peracético como coadyuvantes tecnológicos para la desinfección bacteriana del agua de lavado de ciruelas, cerezas y peras

Número de referencia: AESAN-2022-004

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 29 de junio de 2022

Grupo de trabajo

Sonia Marín Sillué (Coordinadora), Houda Berrada Ramdani, Isabel Hernando Hernando y Ricardo López Rodríguez (AESAN)

Comité Científico

Carlos Alonso Calleja
Universidad de León

Carlos M. Franco Abuín
Universidade de Santiago de Compostela

Sonia Marín Sillué
Universitat de Lleida

Magdalena Rafecas Martínez
Universitat de Barcelona

Houda Berrada Ramdani
Universitat de València

Ángel Gil Izquierdo
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Francisco J. Morales Navas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

María del Carmen Recio Iglesias
Universitat de València

Irene Bretón Lesmes
Hospital Gregorio Marañón de Madrid

María José González Muñoz
Universidad de Alcalá de Henares

Victoria Moreno Arribas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Ana María Rivas Velasco
Universidad de Granada

Araceli Díaz Perales
Universidad Politécnica de Madrid

Isabel Hernando Hernando
Universitat Politècnica de València

Silvia Pichardo Sánchez
Universidad de Sevilla

Gloria Sánchez Moragas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Pablo Fernández Escámez
Universidad Politécnica de Cartagena

Esther López García
Universidad Autónoma de Madrid

María del Puy Portillo Baquedano
Universidad del País Vasco

Antonio Valero Díaz
Universidad de Córdoba

Secretario técnico
Vicente Calderón Pascual

Gestión técnica del informe AESAN: Ricardo López Rodríguez

Resumen

La empresa AgroFresh Fruit Protection S.A. ha solicitado una evaluación de la seguridad del uso como coadyuvante tecnológico de dos soluciones acuosas de peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido peracético. Como estabilizante se incluye el ácido 1-hidroxietilen-1,1-difosfónico (HEDP).

El uso propuesto es la desinfección bacteriana del agua utilizada en el lavado de ciruelas, cerezas y peras en las plantas de procesado.

Se trata de soluciones acuosas de igual composición y fabricante que las evaluadas anteriormente por el Comité Científico para la desinfección bacteriana de las aguas de lavado de cítricos y pimientos, y de manzanas y melocotones. Respecto a las dosis de uso se indica que, dada la reactividad de las sustancias activas con la materia orgánica procedente de la suciedad de las frutas, se requerirá una adición inicial de 0,1 % de FreshStart Disinfect 25-15 o de 0,3 % de FreshStart Disinfect 25-5. En ambos casos la concentración final de ácido peracético en la solución de lavado será de 150 ppm. Tras esta dosificación inicial de 150 ppm de ácido peracético, se realizarán dosificaciones de mantenimiento (0,033 % de FreshStart Disinfect 25-15 o 0,1 % de FreshStart Disinfect 25-5) con objeto de mantener en la solución de lavado una concentración de 50 ppm de ácido peracético.

Considerando el escenario más desfavorable de presencia de residuos en ciruelas, cerezas y peras y su consumo, se ha llevado a cabo una estimación de la ingesta diaria (IDE) de los posibles residuos, así como una valoración del riesgo que pueden suponer para el consumidor mediante el cálculo del margen de seguridad (MOS).

El Comité Científico concluye que, basándose en la información facilitada por el solicitante y teniendo en cuenta la composición y condiciones de uso propuestas, el uso de las soluciones acuosas como coadyuvantes tecnológicos no implica riesgo para la salud del consumidor.

Palabras clave

Ciruelas, cerezas, peras, coadyuvante tecnológico, desinfección bacteriana.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the safe use of two aqueous solutions of hydrogen peroxide, acetic acid and peracetic acid as processing aid for bacterial disinfection of plums, cherries and pears washing water at processing plants

Abstract

The company AgroFresh Fruit Protection S.A. has requested a safety assessment of the use of two aqueous solutions of hydrogen peroxide, acetic acid and peracetic acid as a technological aid. 1-hydroxyethylene-1,1-diphosphonic acid (HEDP) is included as stabilizer.

The proposed use is the bacterial disinfection of the washing water of plums, cherries and pears in the processing plants.

These aqueous solutions have the same composition and manufacturer as those previously evaluated by the Scientific Committee for the bacterial disinfection of washing water of citrus and peppers, and of apples and peaches. With regard to the doses of use, it is indicated that, given the reactivity of the active substances with the organic matter from the dirt on fruits, an initial addition of 0.1 % of FreshStart Disinfect 25-15 or 0.3 % of FreshStart Disinfect 25-5 will be required. In both cases, the final concentration of peracetic acid in the washing solution shall be 150 ppm. After this initial dosing of 150 ppm peracetic acid, maintenance dosages (0.033 % FreshStart Disinfect 25-15

or 0.1 % FreshStart Disinfect 25-5) will be applied to maintain a concentration of 50 ppm peracetic acid in the washing solution.

Considering the most unfavourable scenario of presence of residues in plums, cherries and pears and their consumption, an Estimated Daily Intake (EDI) of possible residues has been carried out, as well as an assessment of the risk they may pose to the consumer by calculating the Margin of Safety (MOS).

The Scientific Committee concludes that, on the basis of the information provided by the applicant, and taking into account the proposed composition and conditions of use, the use of aqueous solutions as processing aids does not pose health risk to consumers.

Key words

Plums, cherries, pears, processing aid, bacterial disinfection.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo) Marín, S., Berrada, H., Hernando, I. y López, R. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la seguridad del uso de dos soluciones acuosas de peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido peracético como coadyuvantes tecnológicos para la desinfección bacteriana del agua de lavado de ciruelas, cerezas y peras. *Revista del Comité Científico*, 2022, 36, pp: 71-84.

1. Introducción

La empresa AgroFresh Fruit Protection S.A., ubicada en Paterna (Valencia), ha solicitado una evaluación de la seguridad del uso de dos soluciones acuosas de peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido peracético como coadyuvantes tecnológicos en el proceso de desinfección bacteriana del agua utilizada para el lavado de ciruelas, cerezas y peras a su llegada a las plantas de procesado. Incluyen además como estabilizante el ácido 1-hidroxietilen-1,1-difosfónico (HEDP).

Las dos soluciones acuosas, denominadas FreshStart Disinfect 25-15 y FreshStart Disinfect 25-5, se diferencian en las concentraciones de sus componentes activos y del estabilizante, obteniéndose en todos los casos la misma concentración final de ácido peracético en la solución de lavado (150 ppm). Las distintas presentaciones responden a motivos comerciales, para adecuar la composición a las normas de transporte y almacenamiento de los clientes.

Se trata de soluciones acuosas de igual composición, dosis de uso y fabricante que las evaluadas anteriormente por el Comité Científico para la desinfección bacteriana de las aguas de lavado de cítricos y pimientos (AESAN, 2018, 2020) y de manzanas y melocotones (AESAN, 2021).

En cuanto a los usos autorizados en alimentación humana se destaca que tanto los componentes individuales del coadyuvante tecnológico como las soluciones de peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido peracético cuentan con distintos usos autorizados en varios países.

Teniendo en cuenta las "Líneas directrices de la documentación precisa para la evaluación de coadyuvantes tecnológicos que se pretenden emplear en la alimentación humana" (AESAN, 2010), y puesto que no se puede descartar la presencia de residuos en los productos finales (ciruelas, cerezas y peras) tras el empleo de estas soluciones acuosas, el coadyuvante se clasifica dentro de la situación 4: sustancia autorizada en alimentación humana cuya IDA (Ingesta Diaria Admisible) no está establecida y cuyo empleo puede conducir a la presencia de residuos técnicamente inevitables. De acuerdo a esa situación, el solicitante presenta información relativa a los siguientes aspectos:

- Datos administrativos y presentación general.
- Características fisicoquímicas.
- Función tecnológica.
- Estudios de residuos: método analítico y validación del método.
- Estudios y datos relativos a la inocuidad.
- Estudio de consumo y evaluación del nivel anticipado de ingesta por el consumidor.

2. Presentación general y características fisicoquímicas

2.1 Composición y formulación detallada

Los productos propuestos como coadyuvantes tecnológicos, con denominaciones comerciales FreshStart Disinfect 25-15 y FreshStart Disinfect 25-5, son soluciones acuosas de ácido peroxiacético, peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido 1-hidroxietilen-1,1-difosfónico (HEDP) como estabilizante. Las dos composiciones buscan mantener el equilibrio químico de los componentes.

Las dos soluciones acuosas se diferencian en las concentraciones de sus componentes activos (peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido peracético) y el estabilizante (HEDP), obteniéndose en todos los casos la misma concentración final de ácido peracético (150 ppm) en las soluciones de lavado (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de los coadyuvantes tecnológicos				
Sustancia	**Función**	**Nº CAS**	**Concentraciones (%)**	
			FreshStart Disinfect 25-15	**FreshStart Disinfect 25-5**
Ácido peracético	Sustancia activa	79-21-0	15	5
Peróxido de hidrógeno	Sustancia activa	7722-84-1	25	25
Ácido acético	Sustancia activa	64-19-7	16	8
Ácido 1-hidroxietilen-1,1-difosfónico (HEDP)	Estabilizante	2809-21-4	0,6	0,5

El pH de la solución al 100 % es <1, a una temperatura de 20 ºC.

2.2 Especificaciones del producto

En las Tablas 2 y 3 se incluyen las especificaciones y los resultados de los análisis de varios lotes de los coadyuvantes tecnológicos.

Tabla 2. Especificaciones y resultados analíticos de FreshStart Disinfect 25-15				
Sustancia	**Especificaciones (% p/p)**	**Certificados de análisis (% p/p)**		
Ácido peracético	15 ± 1,0	15,3	15,9	15,2
Peróxido de hidrógeno	25 ± 2,0	24,8	24,7	24,6
Ácido acético	16 ± 2,0	15,4	15,7	14,8
Ácido 1-hidroxietilen-1,1-difosfónico (HEDP)	0,6	-	-	-

Tabla 3. Especificaciones y resultados analíticos de FreshStart Disinfect 25-5				
Sustancia	**Especificaciones (% p/p)**	**Certificados de análisis (% p/p)**		
Ácido peracético	4,5-5	4,8	4,8	4,9
Peróxido de hidrógeno	25 ± 2,0	25,8	25,4	25,7
Ácido acético	8 ± 2,0	7,6	7,6	7,6
Ácido 1-hidroxietilen-1,1-difosfónico (HEDP)	0,5	-	-	-

El solicitante no ha aportado datos sobre el cumplimiento de las especificaciones del HEDP.

2.2.1 Estabilidad del producto

El solicitante aporta un estudio sobre la evolución de la concentración del ácido peracético mediante un modelo basado en el análisis calorimétrico realizado con soluciones de composición similar.

En base a los resultados obtenidos, el solicitante indica que la estabilidad es de 9 meses para FreshStart Disinfect 25-15 y de 1 año para FreshStart Disinfect 25-5.

2.2.2 Reactividad

Tal y como ya se ha indicado en anteriores evaluaciones de soluciones de similar composición, las reacciones que tienen lugar en el agua son las de descomposición de los compuestos con grupos peróxidos para dar lugar a ácido acético y agua (EFSA, 2005, 2014).

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA), indica que, en contacto con los alimentos, los ingredientes activos de este tipo de soluciones desinfectantes (con peróxido de hidrógeno, ácido peracético, ácido octanoico, ácido peroxioctanoico y HEDP) se descomponen con rapidez en sustancias no tóxicas y que las cantidades de ácido acético y octanoico que pueden permanecer como resultado de la descomposición del ácido peracético y el peroxioctanoico no suponen un problema de seguridad. Además, señala que el peróxido de hidrógeno se descompone rápidamente en contacto con los alimentos, obteniéndose agua y oxígeno (JECFA, 2004, 2005).

Asimismo, el uso de este tipo de soluciones no parece afectar negativamente al contenido de nutrientes (vitamina C y β-caroteno) presentes en frutas en base a los resultados de un estudio llevado a cabo por JECFA (2006) utilizando durante 5 minutos soluciones de lavado con 80 ppm de ácido peracético y 50 ppm de peróxido de hidrógeno.

2.3 Usos autorizados en alimentación humana

Como ya se ha indicado, se trata de soluciones acuosas de igual composición y fabricante que las evaluadas anteriormente por el Comité Científico para la desinfección bacteriana de las aguas de lavado de cítricos y pimientos (AESAN, 2018, 2020) y de manzanas y melocotones (AESAN, 2021). En la Tabla 4, se incluyen ejemplos de otros usos autorizados y evaluados para estas sustancias.

Tabla 4. Ejemplos de usos autorizados y evaluaciones

Sustancia	Uso autorizado/evaluación	País/Referencia
Peróxido de hidrógeno	El Reglamento (CE) N° 853/2004 establece para las gelatinas y el colágeno un límite de residuo de peróxido de hidrógeno de 10 ppm	Unión Europea (UE, 2004)
	Evaluación toxicológica favorable como coadyuvante tecnológico en el procesado de hemoderivados y cefalópodos	España (AESAN, 2011)
	Autorizado su uso en producción de cerveza como agente clarificante (cantidad máxima 135 mg/kg), en suero de leche para decolorar y mantener el pH (100 mg/kg) y en vainas de avena como agente blanqueante (GMP)	Canadá (DJC, 2022)
	Reconocido como GRAS (*Generally Recognized As Safe*) (21 CFR 184.1366), utilizado en leche (0,05 %), lactosuero (0,04 %), queso de lactosuero coloreado con annato (0,05 %), almidón (0,15 %), jarabe de maíz (0,15 %), emulsionantes (1,25 %), huevos deshidratados, estómagos, patas de carne de vacuno, arenques, vino, té y vinagre de vino	Estados Unidos (ECFR, 2022a)
	Autorizado, en combinación con ácido acético, para el proceso de lavado o ayuda en el pelado de frutas y hortalizas que no sean materias primas sin procesar y que no exceda 59 mg/kg en la solución de lavado	Estados Unidos (ECFR, 2022b)
	Autorizado su uso como coadyuvante tecnológico (agente blanqueante, de lavado y *peeling*, estabilizador de pH e inhibidor) en varios alimentos y agua (5 mg/kg)	Australia (ANZFSC, 2022)

Tabla 4. Ejemplos de usos autorizados y evaluaciones		
Sustancia	**Uso autorizado/evaluación**	**País/Referencia**
Ácido acético	Autorizado como aditivo alimentario (E 260), según el Reglamento (CE) N° 1333/2008, con una dosis máxima específica *quantum satis*	Unión Europea (UE, 2008)
Ácido peracético	Autorizado el uso como coadyuvante tecnológico del ácido peracético en solución con peróxido de hidrógeno y ácido acético, en cáscaras de huevo destinadas a la fabricación de *île flotant* (solución al 2,5 % con un 4,5 % de peracético); en guisantes y judías verdes destinados a la esterilización (500 mg/l de ácido peracético); en almidón, fécula y derivados (1 kg/tonelada); en ensaladas crudas listas para el consumo (4ª gama); en espinacas escaldadas, hierbas aromáticas y puerros sin blanquear destinados a la congelación (75 mg/l de peracético); en trigo antes de la molienda (3 l de una solución a base de 15 % de peracético y 23 % de peróxido de hidrógeno por tonelada de trigo) y legumbres deshidratadas (500 mg/l de ácido peracético)	Francia (Arrèté, 2006)
	Autorizado para el proceso de lavado o ayuda en el pelado de frutas y hortalizas que no sean materias primas sin procesar y que no exceda 80 mg/kg en la solución de lavado	Estados Unidos (ECFR, 2022b)
	Autorizado como aditivo alimentario (agente modificador de almidón)	Canadá (DJC, 2022)
	Autorizado como coadyuvante tecnológico como agente blanqueante, de lavado y *peeling* en alimentos, y como catalizador con un nivel máximo permitido de 0,7 mg/kg	Australia (ANZFSC, 2022)
Ácido 1-hidro xietilen-1,1-difosfónico (HEDP)	Evaluación toxicológica favorable de soluciones de ácido acético, ácido peracético, peróxido de hidrogeno y HEDP (pudiendo incluir también ácido octanoico y peroxioctanoico) para su uso en canales de aves y carne	(EFSA, 2014)
	Autorizado junto con ácido peracético para el proceso de lavado o ayuda en el pelado de frutas y hortalizas que no sean materias primas sin procesar y que no exceda 4,8 mg/kg en la solución de lavado	Estados Unidos (ECFR, 2022b)
	Autorizado el aditivo mezcla de ácido peracético, ácido octanoico, ácido acético, peróxido de hidrógeno, ácido peroxioctanóico y HEDP como desinfectante de canales de aves, partes, tripas y órganos con una concentración máxima de peroxiácidos de 220 mg/kg como ácido peracético, 110 mg/kg de peróxido de hidrógeno y 13 mg/kg de HEDP	Estados Unidos (ECFR, 2022c)
	Autorizado como coadyuvante tecnológico en agua y como agente quelante en desinfectantes de carne, frutas y hortalizas, y como coadyuvante tecnológico en agua	Australia (ANZFSC, 2022)

2.4 Ingestas diarias admisibles

No se ha establecido una IDA para el peróxido de hidrógeno, el ácido peracético y el HEDP como componentes individuales (EFSA, 2022a) (JECFA, 2022a). En lo que respecta al ácido acético, se encuentra autorizado como aditivo alimentario (E 260) con una dosis máxima específica *quantum satis* (UE, 2008).

JECFA ha establecido una IDA no especificada para soluciones antimicrobianas de peroxiácidos entre los que se encuentran el peróxido de hidrógeno, el ácido acético, y el ácido peracético, incluyendo además el HEDP como estabilizante (JECFA, 2022b). JECFA considera además que, en

las condiciones de uso previstas para esas soluciones, las cantidades de residuos en los alimentos tratados no suponen ninguna preocupación desde el punto de vista de la seguridad alimentaria (JECFA, 2004, 2005).

3. Función tecnológica

3.1 Uso tecnológico alegado

El solicitante alega que el uso tecnológico es el de desinfectante bacteriano de las aguas utilizadas en el lavado de ciruelas, cerezas y peras.

3.2 Nivel de uso solicitado

Según indica el solicitante, dada la reactividad de las sustancias activas con la materia orgánica procedente de la suciedad de las frutas, se requerirá una adición inicial de 0,1 % de FreshStart Disinfect 25-15 o de 0,3 % de FreshStart Disinfect 25-5. En ambos casos la concentración final de ácido peracético en la solución de lavado será de 150 ppm. Tras esta dosificación inicial de 150 ppm de ácido peracético, se realizarán dosificaciones de mantenimiento (0,033 % de FreshStart Disinfect 25-15 o 0,1 % de FreshStart Disinfect 25-5) con objeto de mantener en la solución de lavado una concentración de 50 ppm de ácido peracético.

La solución de lavado será reutilizada y, en el caso del lavado mediante inmersión (balsas), se dejará que circule al menos 45 segundos antes de lavar las ciruelas, cerezas y peras, siendo el tiempo de contacto de 90 segundos. Respecto al lavado mediante pulverización (espray), la cantidad media de dilución utilizada para el tratamiento es de 150 ml solución/kg de fruta. Tras el lavado se realizará un enjuagado final de las ciruelas, cerezas y peras con agua potable.

3.3 Justificación del uso, interés y eficacia

Tal y como se ha indicado en evaluaciones de productos similares, el primer tratamiento postcosecha que se realiza en los productos vegetales es el lavado, siendo fundamental el mantenimiento higiénico de la solución de lavado, ya que esta se recircula, con lo que van pasando a la solución suciedad proveniente de la recolección, así como microrganismos depositados en el material vegetal. Esta situación provoca que la acumulación de contaminación se pueda incrementar con cada recirculación. Para evitar que la solución de lavado se convierta en un vector de propagación de microorganismos por contaminación cruzada hay que asegurar que su calidad microbiológica se conserva, pudiéndose utilizar a tal efecto productos desinfectantes siempre que se garantice que los productos de degradación y residuos no representen un riesgo para la salud del consumidor ni para el medioambiente (AESAN, 2021).

3.3.1 Estudios de eficacia

El solicitante aporta cuatro estudios de eficacia, llevados a cabo con ciruelas, cerezas y peras en los que se han tenido en cuenta los parámetros microbiológicos establecidos en el Real Decreto 140/2003 por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano (*Escherichia coli, Enterococcus* y *Clostridium perfringens*) (BOE, 2003). Para realizar los

ensayos se utilizó la dosis de reposición del FreshStart Disinfect 25-15, al ser el coadyuvante que a igual concentración final de ácido peracético (50 ppm) en las soluciones de lavado tenía la menor concentración de peróxido de hidrógeno. Asimismo, se utilizaron diferentes modos de aplicación emulando tanto la aplicación por inmersión como por pulverización.

Los resultados obtenidos mostraron reducciones del 100 % de los inóculos añadidos (del orden de 10^4 ufc/ml) de *Escherichia coli, Enterococcus faecalis* y *Clostridium perfringens* en las soluciones de lavado, tras sumergir ciruelas, cerezas o peras durante 90 segundos (7 ml de solución/kg de fruta) o tras pulverizar ciruelas (150 ml de solución/kg de fruta).

3.4 Descripción del proceso

3.4.1 Formas de incorporación del coadyuvante tecnológico

La incorporación del coadyuvante tecnológico tiene lugar durante el lavado de ciruelas, cerezas y peras a su llegada a los centros de procesado, utilizándose la inmersión en balsa o la pulverización/espray como sistema de lavado. Para ello, el coadyuvante tecnológico se adiciona mediante un dosificador automático, de tal forma que se realizará una dosificación inicial con objeto de que la concentración de ácido peracético en la solución de lavado sea de 150 ppm y, posteriormente, se irá reponiendo la cantidad necesaria para mantener una concentración de 50 ppm de ácido peracético. Adicionalmente, se realizan de forma eventual controles de la concentración de ácido peracético mediante un espectrómetro o tiras reactivas.

El tiempo de contacto de la solución de lavado con las ciruelas, cerezas y peras es de 90 segundos en el caso del lavado en balsas, mientras que, mediante pulverización (espray), la cantidad media de dilución utilizada para el tratamiento es de 150 ml solución/kg de fruta.

3.4.2 Identificación de las fases de eliminación del coadyuvante tecnológico

En el caso de las sustancias activas, cabe esperar que la presencia en las frutas fuera despreciable dado que estas sustancias se descomponen rápidamente dando lugar a ácido acético, agua y oxígeno.

Según indica el solicitante, tanto el peróxido de hidrógeno como el ácido peracético en solución son inestables, especialmente en presencia de materia orgánica oxidable. El peróxido de hidrógeno se descompone en agua y oxígeno y el ácido peracético lo hace a ácido acético y agua.

El solicitante afirma además que la fruta se somete a un enjuagado final con agua potable con el fin de eliminar de su superficie posibles residuos de sustancias hidrosolubles.

Se presentan resultados de ensayos de residuos de ácido peracético y HEDP llevados a cabo en las soluciones de lavado y enjuagado de ciruelas, cerezas y peras.

4. Estudios de residuos

Se aportan los resultados de dos estudios llevados a cabo por un laboratorio independiente para la determinación de residuos de ácido peracético y HEDP. Los ensayos fueron llevados a cabo con FreshStart Disinfect 25-5, al ser el coadyuvante tecnológico que, a igual concentración final de ácido peracético (150 ppm) en las soluciones de lavado, es el que tiene la mayor concentración de HEDP (15 ppm).

Se tomaron muestras de las soluciones de lavado de ciruelas, cerezas y peras correspondientes a tres etapas del proceso:

- Solución pretratamiento: toma de muestra una vez añadido el coadyuvante tecnológico y antes de comenzar el tratamiento.
- Solución postratamiento: toma de muestra después del lavado por inmersión.
- Agua postenjuagado: toma de muestra después del enjuagado final con agua potable.

Los análisis de ácido peracético fueron llevados a cabo mediante resonancia magnética nuclear (^{1}HRNM) con unos límites de detección y cuantificación de 2 mg/l y 4 mg/l, respectivamente (Tabla 5).

Tabla 5. Contenidos de ácido peracético (mg/l) en las soluciones de lavado y agua postenjuagado

Muestras	Solución pretratamiento	Solución postratamiento	Agua postenjuagado
Ciruelas	143,51	131,62	<2
	141,89	132,38	<2
Cerezas	134,28	93,35	<2
	133,84	93,69	<2
Peras	133,88	132,91	<2
	134,12	132,69	<2

Los residuos de ácido peracético presentes en el agua postenjuagado fueron inferiores al límite de detección, corroborando la rápida descomposición del ácido peracético.

Respecto a los análisis de HEDP, también fueron llevados a cabo mediante resonancia magnética nuclear (^{1}HRNM) con los mismos límites de detección y cuantificación que en el caso del ácido peracético (2 mg/l y 4 mg/l, respectivamente) (Tabla 6).

Tabla 6. Contenidos de ácido HEDP (mg/l) en las soluciones de lavado y agua postenjuagado

Muestras	Solución pretratamiento	Solución postratamiento	Agua postenjuagado
Ciruelas	12,26	11,16	<2
	13,34	10,44	<2
Cerezas	12,67	12,05	<2
	11,59	11,03	<2
Peras	11,66	8,88	<2
	12,94	10,32	<2

Los residuos de HEDP presentes en el agua postenjuagado son inferiores al límite de detección (2 mg/l).

5. Estudios y datos relativos a la inocuidad del HEDP

Dado que no hay una IDA establecida para el HEDP, la evaluación de riesgo se basa en la determinación del margen de seguridad (MOS), considerando que cuando el MOS> 100, no existe riesgo para el consumidor. El MOS se calcula teniendo en cuenta el NOAEL (nivel sin efecto adverso observable) y la Ingesta Diaria Estimada (IDE).

En el caso del HEDP, se han llevado a cabo varios estudios sobre su toxicidad estableciéndose diferentes NOAELs (EFSA, 2014). Siguiendo el mismo criterio que EFSA, para el cálculo del MOS se utilizará un NOAEL de 50 mg/kg p.c./día establecido en base a estudios llevados a cabo en ratas y conejos.

6. Estudios de consumo y evaluación del nivel anticipado de ingesta de HEDP por el consumidor

Para realizar la estimación de la exposición, se han tenido en cuenta los datos del país de la Unión Europea con los consumos crónicos más elevados (media y percentil 95 de solo consumidores) de ciruelas, cerezas y peras, tanto para adultos como para niños de 1 a 3 años (*toddlers*) y niños menores de 1 año (*infants*), de acuerdo a la *Comprehensive European Food Consumption Database* de EFSA (2022b) (datos actualizados a mayo de 2022):

- En el caso de los adultos, los consumos más elevados corresponden a: 1,42 y 4,49 g/kg p.c./día para la media y el percentil 95, respectivamente, en el caso de las ciruelas (datos de Italia); 1,37 y 4,55 g/kg p.c./día para la media y el percentil 95, respectivamente, en el caso de las cerezas (datos de la República Checa); y 1,80 y 4,87 g/kg p.c./día para la media y el percentil 95, respectivamente, en el caso de las peras (datos de Grecia).
- Respecto a los niños de 1 a 3 años se obtienen unos consumos de 5,21 y 11,37 g/kg p.c./día para la media y el percentil 95, respectivamente, en el caso de las ciruelas (datos de Portugal); 5,45 y 11,06 g/kg p.c./día para la media y el percentil 95, respectivamente, en el caso de las cerezas (datos de Eslovenia); y 7,67 y 20,27 g/kg p.c./día para la media y el percentil 95, respectivamente, en el caso de las peras (datos de Estonia).
- Siguiendo los mismos criterios, para los niños menores de 1 año, se obtienen unos consumos de 4,35 y 11,25 g/kg p.c./día para las ciruelas (datos de Estonia); 3,82 y 9,61 g/kg p.c./día para las cerezas (datos de Bulgaria); y 9,38 y 35,37 g/kg p.c./día para las peras (datos de Letonia).

En el caso de los residuos de HEDP, se considera que la fruta de inmersión retiene 0,007 l de solución postratamiento/kg mientras que por pulverización se eleva a 0,15 l/kg fruta. Considerando una concentración de HEDP en la solución postratamiento de 2 ppm (el límite de detección) y un empleo de 0,007 l solución/kg fruta por inmersión y 0,15 l solución/kg fruta por pulverización, los residuos estimados de HEDP serían de 0,014 mg HEDP/kg fruta y 0,3 mg HEDP/kg fruta, respectivamente.

Considerando, los consumos más elevados para cada tipo de fruta y los residuos estimados de HEDP (siendo el peor de los casos 0,3 mg HEDP/kg fruta), se obtiene la Ingesta Diaria Estimada (IDE). En base a la ingesta estimada y el NOAEL (50 mg HEDP/kg p.c./día) se calcula el margen de seguridad (MOS) (Tabla 7).

Tabla 7. Estimación de la exposición al HEDP y cálculo del MOS

Población	Fruta	Consumo (g/kg p.c./día)		IDE (mg HEDP/kg p.c./día)	MOS
Adultos	Ciruelas	Media	1,42	0,0004	125 000
		P95	4,49	0,0013	38 462
	Cerezas	Media	1,37	0,0004	125 000
		P95	4,55	0,0014	35 714
	Peras	Media	1,80	0,0005	100 000
		P95	4,87	0,0015	33 333
Niños (1-3 años)	Ciruelas	Media	5,21	0,0016	31 250
		P95	11,37	0,0034	14 706
	Cerezas	Media	5,45	0,0016	31 250
		P95	11,06	0,0033	15 152
	Peras	Media	7,67	0,0023	21 739
		P95	20,27	0,0061	8197
Niños (<1 año)	Ciruelas	Media	4,35	0,0013	38 462
		P95	11,25	0,0034	14 706
	Cerezas	Media	3,82	0,0011	45 455
		P95	9,61	0,0029	17 241
	Peras	Media	9,38	0,0028	17 857
		P95	35,37	0,0106	4717

Conclusiones del Comité Científico

El Comité Científico, una vez evaluado el expediente de solicitud de uso de las soluciones acuosas con denominaciones comerciales FreshStart Disinfect 25-15 y FreshStart Disinfect 25-5 como coadyuvantes tecnológicos en el proceso de desinfección bacteriana del agua utilizada para el lavado de ciruelas, cerezas y peras a su llegada a las plantas de procesado concluye que, basándose en la información facilitada por el solicitante y teniendo en cuenta la composición y condiciones de uso propuestas, el uso del coadyuvante tecnológico no implica riesgo para la salud del consumidor.

Las conclusiones de este informe se refieren exclusivamente a las soluciones objeto de evaluación como coadyuvante tecnológico en las condiciones de uso propuestas y con su composición actual, tanto en lo referido a sus componentes activos como a sus estabilizantes, no pudiéndose extender a otras formulaciones o condiciones distintas de las evaluadas, incluido el uso conjunto con otras sustancias. Debe tenerse en cuenta que los kg de fruta tratados, las condiciones climáticas o la suciedad pueden influir en las concentraciones de los componentes del coadyuvante en las soluciones de lavado y, por tanto, en sus eventuales residuos.

Esta evaluación no supone una autorización de uso ni afecta a usos distintos del uso como coadyuvante en el proceso de desinfección bacteriana del agua utilizada para el lavado de ciruelas, cerezas y peras a su llegada a las plantas de procesado. Este uso implica un enjuague final con

agua potable, de forma consecutiva a la aplicación del lavado con el coadyuvante, de forma que se eliminen los posibles residuos en las ciruelas, cerezas y peras.

Los productos así procesados deberán cumplir con toda la legislación alimentaria que les sea de aplicación y, una vez estén en el mercado, el operador deberá asegurar la ausencia de contaminantes, residuos o microorganismos indeseables, o su presencia por debajo de los límites máximos establecidos.

Referencias

AESAN (2010). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Líneas Directrices de la documentación precisa para la evaluación de coadyuvantes tecnológicos que se pretenden emplease en la alimentación. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 12, pp: 79-93.

AESAN (2011). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación al uso del peróxido de hidrógeno como coadyuvante tecnológico en el procesado de hemoderivados y cefalópodos. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 15, pp: 11-32.

AESAN (2018). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) en relación a la seguridad del uso de varias soluciones acuosas de peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido peracético como coadyuvantes tecnológicos para la desinfección bacteriana del agua de lavado de cítricos y pimientos en las plantas de procesado. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 27, pp: 41-60.

AESAN (2020). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la seguridad del uso de tres soluciones acuosas de peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido peracético como coadyuvantes tecnológicos para la desinfección bacteriana del agua de lavado de cítricos y pimientos en las plantas de procesado. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 31, pp: 33-47.

AESAN (2021). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Español de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la seguridad del uso de dos soluciones acuosas de peróxido de hidrógeno, ácido acético y ácido peracético como coadyuvantes tecnológicos para la desinfección bacteriana del agua de lavado de manzanas y melocotones. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 34, pp: 23-37.

ANZFSC (2022). Australia New Zealand Food Standars Code. Standard 1.3.3 Processing aids. Disponible en: https://www.legislation.gov.au/Details/F2016C00196 [acceso: 23-05-22].

Arrète (2006). Arrèté du 19 de octubre 2006 relatif à l'emploi d'auxiliaires technologiques dans la fabrication de certaines denrées alimentaires. Ministere de l'Économie, des Finances et de l'Industrie. *Journal Officiel de la République Française* de 2 de diciembre de 2006. Version en vigueur au 23 mai 2022. Disponible en: https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=LEGITEXT000020667468&dateTexte=20200220 [acceso: 23-05-22].

DJC (2022). Department of Justice Canada. Food and Drug Regulations. Food Additives that may be used as Starch Modifying Agents. Disponible en: http://laws-lois.justice.gc.ca/eng/regulations/C.R.C.,_c._870/FullText.html [acceso: 23-05-22].

ECFR (2022a). Electronic Code of Federal Regulations. Direct Food Substances Affirmed as Generally Recognized as Safe. §184.1366 Hydrogen peroxide. Disponible en: https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-B/part-184/subpart-B/section-184.1366 [acceso: 23-05-22].

ECFR (2022b). Electronic Code of Federal Regulations. Title 21-Food and Drugs, Sec. 173.315. Chemicals used in washing or to assist in the peeling of fruits and vegetables. Disponible en: https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-B/part-173#173.315 [acceso: 23-05-22].

ECFR (2022c). Electronic Code of Federal Regulations. Title 21-Food and Drugs, Sec. 173.370 Peroxyacids. Disponible en: http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=9e43c8243ba638d9049d069fcc658ec5&mc=true&node=pt21.3.173&rgn=-div5#se21.3.173_1315 [acceso: 23-05-22].

EFSA (2005). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request form the Commission related to treatment of poultry carcasses with chlorine dioxide, acidifed sodium chlorite, trisodium phosphate and peroxyacids. *EFSA Journal*, 297, pp: 1-27.

EFSA (2014) Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the evaluation of the safety and efficacy of peroxyacetic acid solutions for reduction of pathogens on poultry carcasses and meat. *EFSA Journal*, 12 (3): 3599, pp: 1-60.

EFSA (2022a). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Chemical hazards data – OpenFoodTox. Disponible en: https://www.efsa.europa.eu/en/data/chemical-hazards-data [acceso: 9-05-22].

EFSA (2022b). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Comprehensive European Food Consumption Database. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/en/food-consumption/comprehensive-database [acceso: 9-05-22].

JECFA (2004). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Chemical and Technical Assessment. Hydrogen peroxide, peroxyacetic acid, octanoic acid, peroxyoctanoic acid, and 1-hydroxyethylidene-1,1-diphosphonic acid (HEDP) as components of antimicrobial washing solution.

JECFA (2005). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Evaluation of certain food additives: sixty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report series 928, pp: 8-17.

JECFA (2006). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Safety evaluation of certain food additives. Prepared by the sixty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series: 54.

JECFA (2022a). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Evaluations of the JECFA. Disponible en: http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/search.aspx [acceso: 9-05-22].

JECFA (2022b). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Evaluations of the JECFA. Peroxyacid antimicrobial solutions. Disponible en: http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=4909 [acceso: 9-05-22].

UE (2004). Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DO L 139 de 30 de abril de 2004, pp: 22-82.

UE (2008). Reglamento (CE) Nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre aditivos alimentarios. DO L 354 de 31 de diciembre de 2008, pp: 1-6.

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la evaluación del riesgo de la ingesta inadecuada de minerales (metales) antioxidantes en complementos alimenticios que puede dar lugar a efectos prooxidantes: cobre, manganeso, selenio y zinc

Número de referencia: AESAN-2022-005

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 29 de junio de 2022

Grupo de trabajo

Magdalena Rafecas Martínez (Coordinadora), Irene Bretón Lesmes, Araceli Díaz Perales, Ángel Gil Izquierdo, María del Puy Portillo Baquedano y Ana María Rivas Velasco

Comité Científico

Carlos Alonso Calleja
Universidad de León

Carlos M. Franco Abuín
Universidade de Santiago de Compostela

Sonia Marín Sillué
Universitat de Lleida

Magdalena Rafecas Martínez
Universitat de Barcelona

Houda Berrada Ramdani
Universitat de València

Ángel Gil Izquierdo
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Francisco J. Morales Navas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

María del Carmen Recio Iglesias
Universitat de València

Irene Bretón Lesmes
Hospital Gregorio Marañón de Madrid

María José González Muñoz
Universidad de Alcalá de Henares

Victoria Moreno Arribas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Ana María Rivas Velasco
Universidad de Granada

Araceli Díaz Perales
Universidad Politécnica de Madrid

Isabel Hernando Hernando
Universitat Politècnica de València

Silvia Pichardo Sánchez
Universidad de Sevilla

Gloria Sánchez Moragas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Pablo Fernández Escámez
Universidad Politécnica de Cartagena

Esther López García
Universidad Autónoma de Madrid

María del Puy Portillo Baquedano
Universidad del País Vasco

Antonio Valero Díaz
Universidad de Córdoba

Secretario técnico
Vicente Calderón Pascual

Gestión técnica del informe AESAN: Paula Arrabal Durán

Resumen

El término antioxidante se refiere, de forma general, a la propiedad de algunas sustancias de prevenir el daño oxidativo. El estrés oxidativo es uno de los mecanismos etiopatogénicos de un elevado número de patologías que presentan una alta prevalencia en nuestra sociedad y numerosos estudios se han encaminado en los últimos años a demostrar las propiedades beneficiosas de la ingesta de compuestos potencialmente antioxidantes, promoviendo y alentando el consumo de es-

tas sustancias. Por ello, tanto el interés de los consumidores hacia la ingesta de sustancias con propiedades antioxidantes como la oferta de alimentos y complementos alimenticios que poseen pretendidos efectos antioxidantes se han visto incrementados notablemente. Por otro lado, algunas sustancias antioxidantes han mostrado comportamientos contradictorios ya que, en determinadas dosis o condiciones, pueden resultar prooxidantes.

Los metales divalentes cobre, manganeso, selenio y zinc han demostrado contribuir a la protección de las células frente al daño oxidativo actuando como cofactores de sistemas enzimáticos antioxidantes. Estos minerales cuentan con la aprobación de declaraciones de propiedades saludables relacionadas con la protección de las células frente al daño oxidativo en el marco reglamentario europeo.

La suplementación de cobre, manganeso, selenio y zinc a través de alimentos enriquecidos y complementos alimenticios en la población adulta sana resulta ser segura en las condiciones establecidas por la normativa europea. Por otra parte, la bibliografía científica sugiere que estos metales, en determinadas dosis o condiciones, podrían tener efectos prooxidantes. Se recomienda la realización de estudios con una adecuada metodología para evaluar en profundidad estos efectos y bajo qué condiciones se producen, así como los efectos adversos que pudieran derivarse de los mismos.

Además, en el caso de mujeres embarazadas o lactantes, niños, ancianos y personas con determinadas patologías, solo deben consumirse complementos tras haberlo consultado con un profesional sanitario, ya que hay poca información sobre la seguridad de muchas sustancias en estas etapas y, a veces, pueden tener interacciones con medicamentos. En ningún caso deben sustituir al uso de medicamentos sin una supervisión médica adecuada.

Las cantidades máximas de minerales que se podrían usar en los complementos alimenticios por dosis diaria de consumo recomendada por el fabricante, así como la que se podrían añadir a los alimentos, se deberían establecer teniendo en cuenta los niveles máximos de seguridad de vitaminas y minerales y la ingesta de vitaminas y minerales a partir de otras fuentes de alimentación, tal y como ya prevé la Directiva 2002/46/CE sobre complementos alimenticios y el Reglamento (CE) Nº 1925/2006, sobre la adición de vitaminas, minerales y otras sustancias determinadas a los alimentos.

Palabras clave

Metales, minerales, cobre, manganeso, selenio, zinc, antioxidante, prooxidante, complementos alimenticios.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the risk assessment of inadequate intake of antioxidant minerals (metals) in food supplements that can lead to prooxidant effects: copper, manganese, selenium and zinc

Abstract

The term antioxidant generally refers to the property of some substances to prevent oxidative damage. Oxidative stress is one of the etiopathogenic mechanisms of a large number of pathologies with high prevalence in our society, and numerous studies have been directed in recent years to demonstrate the beneficial properties of the intake of compounds with antioxidant potential, promoting and encouraging their consumption. Therefore, consumer interest in the use of substances with antioxidant properties and the supply of foods and food supplements with alleged antioxidant effects have increased considerably. On the other hand, some antioxidants have shown contradictory behaviours since, in certain doses or conditions, they can become prooxidants.

The divalent metals copper, manganese, selenium and zinc have been demonstrated to contribute to the protection of cells against oxidative damage by acting as cofactors of antioxidant enzyme systems. These minerals have approved health claims related to the protection of cells against oxidative damage under the European regulatory framework.

The supplementation of copper, manganese, selenium and zinc through fortified foods and food supplements in the healthy adult population is safe under the conditions laid down by European regulations. On the other hand, scientific literature suggests that these metals could have prooxidant effects in certain doses or conditions. It is recommended that studies be carried out with an adequate methodology to evaluate these effects thoroughly and under which conditions they occur, as well as the adverse effects that could derive from them.

In addition, for pregnant or lactating women, children, the elderly and people with certain pathologies, supplements should only be taken after consultation with a health professional since there is little information on the safety of many substances in these stages and, sometimes, there may be interactions with medications. In no case should they replace the use of medicines without proper medical supervision.

The maximum amounts of minerals that could be used in food supplements per daily intake as recommended by the manufacturer, as well as the amount that could be added to foods, should be established taking into account the maximum safe levels of vitamins and minerals and the intake of vitamins and minerals from other food sources, as already provided for in Directive 2002/46/EC on food supplements and Regulation (EC) No. 1925/2006 on the addition of vitamins and minerals and of certain other substances to foods.

Key words

Metals, minerals, copper, manganese, selenium, zinc, antioxidant, prooxidant, food supplements.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo) Rafecas, M., Bretón, I., Díaz, A., Gil, Á., Portillo, M.P. y Rivas, A.M. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la evaluación del riesgo de la ingesta inadecuada de minerales (metales) antioxidantes en complementos alimenticios que puede dar lugar a efectos prooxidantes: cobre, manganeso, selenio y zinc. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2022, 36, pp: 85-111.

1. Introducción

El término antioxidante se refiere, de forma general, a la propiedad de algunas sustancias de prevenir el daño oxidativo. Aunque hay evidencias de que una dieta rica en frutas y vegetales es saludable y previene diversas enfermedades, no está claro si ello está relacionado con la cantidad de antioxidantes en estos alimentos o con otros factores. Por otro lado, los complementos alimenticios con antioxidantes no han demostrado una disminución del riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares o cáncer (NCCIH, 2013) (Aune et al., 2018).

Sin embargo, en los últimos años, tanto el interés de los consumidores hacia la ingesta de sustancias con propiedades antioxidantes como la oferta de la industria de alimentos y complementos alimenticios que poseen pretendidos efectos antioxidantes se han visto incrementados notablemente. Un ejemplo de lo anterior es que, de los 509 complementos alimenticios notificados en España desde 2007 hasta 2021 que contienen "antiox" o "detox" en su nombre comercial, cerca de un 40 % han sido notificados en los últimos 5 años. Muchos de estos complementos contienen metales divalentes (cobre, manganeso, selenio y zinc) en su composición, así como otros compuestos y extractos de plantas muy diversas.

Numerosos estudios se han encaminado en los últimos años a demostrar las propiedades beneficiosas de la ingesta de compuestos potencialmente antioxidantes, promoviendo y alentando el consumo de estas sustancias. En este sentido, se han presentado en la Unión Europea, en el marco del Reglamento (CE) Nº 1924/2006 (UE, 2006a), relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos, un gran número de solicitudes de declaraciones de propiedades saludables de diferentes sustancias basándose en el poder antioxidante o de protección frente al daño oxidativo. Sin embargo, solo las declaraciones de 8 de estas sustancias cuentan con un informe favorable de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

Por otro lado, algunas sustancias antioxidantes han mostrado comportamientos contradictorios ya que, en determinadas dosis o condiciones, pueden resultar prooxidantes. En este sentido, en informes anteriores sobre condiciones de uso de determinadas sustancias para ser empleadas en complementos alimenticios, el Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) ha advertido de que, en el caso de algunas sustancias con acción antioxidante, debe tenerse en cuenta que en ciertas condiciones como son consumo de dosis elevadas, cambios en el pH o la presencia de determinadas sustancias, estos compuestos pueden comportarse como prooxidantes (AESAN, 2012, 2013, 2014, 2015, 2017).

Si a esto se le une el hecho de que los complementos alimenticios que contienen antioxidantes, aunque cuenten con una regulación específica, se pueden adquirir de forma libre, que hay una buena parte de la población muy proclive a consumir este tipo de productos, y que también existe un amplio mercado de alimentos enriquecidos con este tipo de sustancias, el aporte de dieta diaria-complementos alimenticios-alimentos enriquecidos podría facilitar que se superen los límites de seguridad que supongan el paso de un beneficio a un perjuicio para la salud del consumidor. En concreto, las dosis que aportan los complementos alimenticios son, en líneas generales, muy superiores a las que aportan los alimentos enriquecidos.

En un muestreo no exhaustivo realizado sobre los complementos alimenticios que contienen las palabras "antiox" o "detox" en su nombre comercial y que se encuentran registrados en el Registro General Sanitario de Empresas Alimentarias y Alimentos (RGSEAA), se ha analizado la composición

de los complementos notificados en 2019, 2020 y 2021 (98 en total). Entre estos productos, los hay que contienen una mezcla de extractos de plantas, y los hay que contienen vitaminas y minerales (solos o acompañados de extractos de plantas). Entre los segundos, los hay que contienen metales divalentes (en concreto un 32 % de los 98).

Por todo ello, la AESAN ha solicitado al Comité Científico que realice una evaluación del riesgo de la ingesta inadecuada de minerales antioxidantes como complementos alimenticios que puede dar lugar a efectos prooxidantes: cobre, manganeso, selenio y zinc, a fin de determinar si cabe realizar recomendaciones en este sentido, teniendo en cuenta las características de la dieta de la población en España.

2. Declaraciones de propiedades saludables de sustancias con un pretendido efecto antioxidante

Como se indicaba anteriormente, una muestra del interés que presentan las sustancias con un pretendido efecto antioxidante son las numerosas declaraciones de propiedades saludables que se han presentado para su autorización en el marco del Reglamento (CE) Nº 1924/2006 (UE, 2006a).

Este Reglamento pretende garantizar que las declaraciones de propiedades saludables sean veraces, claras, fiables y útiles para el consumidor a la hora de elegir una dieta saludable y, por ello, regula las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables que pueden utilizarse en el etiquetado, la presentación y la publicidad de alimentos comercializados en la Unión Europea.

En este sentido, el artículo 5 del citado Reglamento establece que solamente se autorizará el uso de declaraciones nutricionales y de propiedades saludables si se cumplen determinadas condiciones generales referidas, por ejemplo, a si se ha demostrado que la presencia, ausencia o contenido reducido, en un alimento o una categoría de alimentos, de un nutriente u otra sustancia respecto del cual se efectúa la declaración posee un efecto nutricional o fisiológico benéfico, establecido mediante pruebas científicas generalmente aceptadas. También deben cumplirse determinadas condiciones respecto al nutriente o sustancia acerca del cual se efectúa la declaración, referidas a su contenido en el producto final o si está en una forma asimilable por el organismo (UE, 2006a).

En el caso de las declaraciones de propiedades saludables, solamente se permiten las declaraciones si se incluye determinada información en el etiquetado o, de no existir este, en la presentación y la publicidad (UE, 2006a):

a) una declaración en la que se indique la importancia de una dieta variada y equilibrada y un estilo de vida saludable;
b) la cantidad de alimento y el patrón de consumo requeridos para obtener el efecto benéfico declarado;
c) en su caso, una declaración dirigida a las personas que deberían evitar el consumo del alimento; y
d) una advertencia adecuada en relación con los productos que pueden suponer un riesgo para la salud si se consumen en exceso.

Las solicitudes de autorización de estas declaraciones son presentadas ante las autoridades nacionales competentes de cada Estado miembro de la Unión Europea, que las transmiten a la EFSA para su valoración y emisión de un dictamen. Este dictamen se remite a la Comisión Europea y a los

Estados miembros para una toma de decisión respecto a la solicitud. Estas declaraciones de propiedades saludables fueron aprobadas al amparo del artículo 13 del Reglamento (CE) Nº 1924/2006 (UE, 2006a), en el Reglamento (UE) Nº 432/2012 de la Comisión, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y salud de los niños (UE, 2012).

En el momento de redacción del presente informe, existen 277 declaraciones de propiedades saludables autorizadas.

En cuanto a las declaraciones de propiedades saludables que se refieren a la protección frente al daño oxidativo de determinadas sustancias, la EFSA dictaminó que las declaraciones basadas en la capacidad de eliminación de los radicales libres *in vitro* se refieren a una propiedad medida en modelos, y no se ha establecido que esta capacidad ejerza un efecto fisiológico beneficioso en humanos, tal y como se requiere en el Reglamento (CE) Nº 1924/2006 (UE, 2006a). Por ello, las declaraciones de propiedades saludables que fueron presentadas bajo el artículo 13 dicho Reglamento, después de un estudio y debate minucioso en el seno del Grupo de Trabajo de la Comisión, fueron autorizadas en los términos de "protección frente al daño oxidativo", pero no con los términos "antioxidante, "pro antioxidante" o similares (EFSA, 2017). De las 277 declaraciones de propiedades saludables que cuentan con un informe favorable de la EFSA y han sido autorizadas, 8 se refieren a la protección frente al daño oxidativo de determinadas sustancias. De entre estas declaraciones, las referidas a metales divalentes se recogen en la Tabla 1. En el Reglamento (UE) Nº 432/2012 (UE, 2012), se establecen una serie de condiciones de uso para cada una de estas declaraciones. En concreto, para cobre, manganeso, riboflavina, selenio, vitamina C, vitamina E y zinc, se establece que la declaración referida a la contribución de la protección de las células frente al daño oxidativo solo puede utilizarse respecto a alimentos que son, como mínimo, fuente de dichos nutrientes de acuerdo con la declaración "Fuente de [nombre de las vitaminas] y/o [nombre de los minerales]" que figura en el anexo del Reglamento (CE) Nº 1924/2006 (UE, 2006a), es decir, el producto ha de contener como mínimo una cantidad significativa de vitaminas o minerales tal como se define en el anexo XIII del Reglamento (UE) Nº 1169/2011 (UE, 2011) (al menos un 15 % de la cantidad recomendada y suministrada por 100 g o 100 ml o por envase si este contiene una única porción) o una cantidad establecida por las excepciones concedidas en virtud del artículo 7 del Reglamento (CE) Nº 1925/2006 (UE, 2006b).

Tabla 1. Declaraciones de propiedades saludables en relación con la protección frente al daño oxidativo autorizadas en la Unión Europea para minerales/metales divalentes (UE, 2012)

Sustancia	Declaraciones de propiedades saludables autorizadas relacionadas con la protección frente al daño oxidativo	Nº de solicitudes presentadas a la EFSA	Opinión de la EFSA
Cobre	El cobre contribuye a la protección de las células frente al daño oxidativo	2	EFSA (2009a)
Manganeso	El manganeso contribuye a la protección de las células frente al daño oxidativo	1	EFSA (2009b)
Selenio	El selenio contribuye a la protección de las células frente al daño oxidativo	10	EFSA (2009c) EFSA (2010)
Zinc	El zinc contribuye a la protección de las células frente al daño oxidativo	2	EFSA (2009d)

Otras declaraciones solicitadas respecto a sustancias con pretendidos efectos de tipo antioxidante y que no han obtenido un dictamen favorable se referían a propiedades de antienvejecimiento o a la protección de la piel frente al daño foto-oxidativo inducido por la radiación ultravioleta. Las 20 solicitudes que se referían literalmente a un pretendido efecto antioxidante han sido rechazadas por la EFSA por diversas razones, entre las que se encuentran que la declaración se basaba en la capacidad de inhibir (*scavening*) radicales libres *in vitro*, pero no se había demostrado que esta capacidad como tal ejerciera un efecto fisiológico beneficioso en humanos, o bien no se había demostrado una relación causa-efecto entre el consumo de estas sustancias y el efecto fisiológico beneficioso.

En la Tabla 2 se incluyen las declaraciones de propiedades saludables autorizadas para cobre, manganeso, selenio y zinc conforme al Reglamento (UE) Nº 432/2012 (UE, 2012).

Tabla 2. Declaraciones de propiedades saludables autorizadas para cobre, manganeso, selenio y zinc conforme al Reglamento (UE) Nº 432/2012 (UE, 2012)

Declaración	Cobre	Manganeso	Selenio	Zinc
Contribuye a la espermatogénesis normal			x	
Contribuye a la fertilidad y reproducción normales				x
Contribuye a la formación normal del tejido conectivo		x		
Contribuye a la función cognitiva normal				x
Contribuye a la función tiroidea normal			x	
Contribuye a la pigmentación normal de la piel	x			
Contribuye a la pigmentación normal del cabello	x			
Contribuye a la protección de las células frente al daño oxidativo	x	x	x	x
Contribuye a la síntesis normal del ADN				x
Contribuye a la síntesis proteínica normal				x
Contribuye al equilibrio ácido-base normal				x
Contribuye al funcionamiento normal del sistema inmunitario	x		x	x
Contribuye al funcionamiento normal del sistema nervioso	x			
Contribuye al mantenimiento de la piel en condiciones normales				x
Contribuye al mantenimiento de la visión en condiciones normales				x
Contribuye al mantenimiento de las uñas en condiciones normales			x	x
Contribuye al mantenimiento de los huesos en condiciones normales		x		x
Contribuye al mantenimiento de niveles normales de testosterona				x
Contribuye al mantenimiento del cabello en condiciones normales			x	x
Contribuye al mantenimiento del tejido conectivo en condiciones normales	x			
Contribuye al metabolismo energético normal	x	x		
Contribuye al metabolismo normal de la vitamina A				x
Contribuye al metabolismo normal de los ácidos grasos				x
Contribuye al metabolismo normal de los hidratos de carbono				x
Contribuye al metabolismo normal de los macronutrientes				x
Contribuye al proceso de división celular				x
Contribuye al transporte normal de hierro en el organismo	x			

3. Bases bioquímicas del estrés oxidativo

El estrés oxidativo es un proceso que se produce en nuestro organismo debido a un exceso de radicales libres y a la falta de antioxidantes para contrarrestarlos. Es decir, se trata de un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS) y la capacidad de un sistema biológico de neutralizar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante (Pizzino et al., 2017). En la Figura 1 se observa la cascada de la alteración entre el equilibrio entre antioxidantes y prooxidantes (Sies et al., 2019).

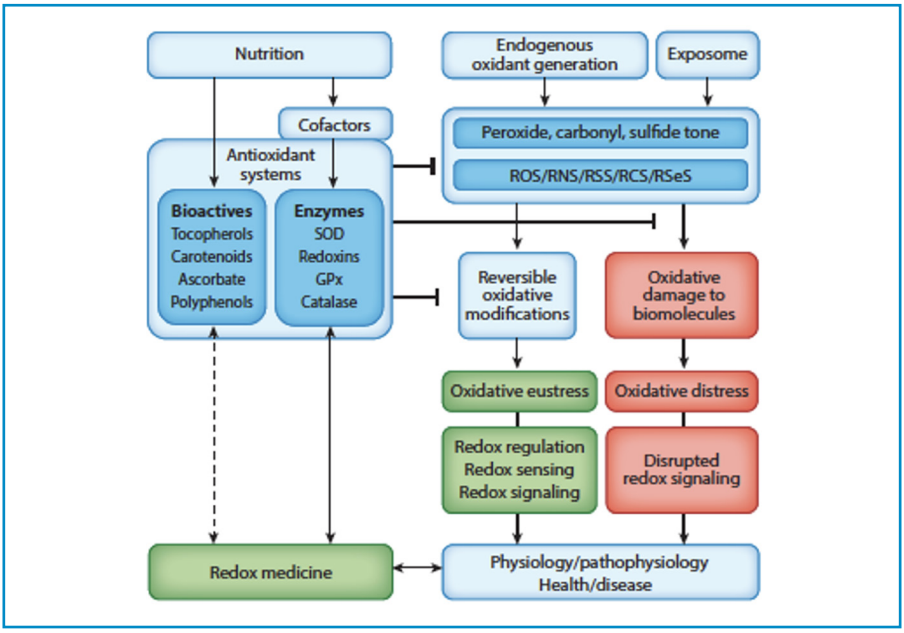

Figura 1. Cascada de alteración entre el equilibrio entre antioxidantes y prooxidantes. Los cofactores incluyen micronutrientes e iones metálicos. Las redoxinas son los sistemas tiorredoxina, glutarredoxina y peroxirredoxina. La generación de oxidantes endógenos incluyen la cadena respiratoria, las oxidaciones lipídicas y otros. Abreviaturas: GPx, glutation peroxidasa; RCS, especies reactivas carbonilo; RNS, especies reactivas de nitrógeno; ROS, especies reactivas de oxígeno; RSeS, especies reactivas de selenio; RSS, especie reactivas de azufre; SOD, superóxido dismutasa. **Fuente:** (Sies et al., 2019).

Se trata de especies químicas que contienen uno o más electrones, que realizan su recorrido orbital de manera impar, lo cual trae consigo una gran inestabilidad del equilibrio molecular, que solo se restablece cuando de sus proximidades logran sustraer el electrón requerido para constituir la indispensable paridad electrónica. Entre las principales especies reactivas de oxígeno destacan el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo ($OH^{\bullet}$), el oxígeno singlete ($^1O_2$) y el ácido hipocloroso (HClO).

Un compuesto se transforma en radical libre cuando pierde un electrón, cuando gana un electrón y en la fisión simétrica de los compuestos covalentes, donde cada fragmento retiene un electrón impar, como acontece típicamente en la lipoperoxidación. Esta situación genera una inestabilidad

energética, circunstancia que hace que tiendan a reaccionar con otras moléculas captando electrones (oxidando) y generando una nueva inestabilidad en las mismas, lo cual puede desencadenar una reacción en cadena (Cheeseman y Slater, 1993).

En condiciones normales en organismos aeróbicos, la fuente más importante de este tipo de sustancias es probablemente la pérdida de oxígeno activado de las mitocondrias durante el funcionamiento normal de la respiración oxidativa. Este fenómeno tiene lugar a nivel de la cadena de transporte de electrones, que es la última etapa de producción de protones de alta energía, y cuyo pasaje a través de la membrana interna mitocondrial genera un gradiente eléctrico que aporta la energía necesaria para formar el ATP o adenosina trifosfato. Además, el mal funcionamiento de las mitocondrias también puede elevar la producción especies reactivas de oxígeno, por lo que funciones indispensables biológicas, como el metabolismo de los alimentos, y el ejercicio e innumerables patologías corporales están estrechamente ligadas con la producción los mismos. Otras fuentes son los peroxisomas, muy ricos en oxidasas y que generan H_2O_2, que es depurado por enzimas específicas (catalasas) y transformado en agua (Browning y Horton, 2004).

Los leucocitos polimorfonucleares constituyen también una fuente importante de especies reactivas de oxígeno cuando se activan por diversas proteínas que actúan específicamente sobre ellos, como son las interleuquinas. Esta situación se da particularmente en los procesos inflamatorios (Franzini et al., 1993).

Metales tales como cobalto, cobre, cromo, hierro y vanadio son capaces de hacer ciclos redox en los que un solo electrón puede ser aceptado o donado por el metal. Esta acción cataliza reacciones que pueden producir especies reactivas de oxígeno (Ballester, 1996). La mayoría de las enzimas que producen las especies reactivas de oxígeno contienen uno de estos metales. La presencia de estos metales en los sistemas biológicos sin estar en forma de complejo (es decir, no asociado a una proteína u otro tipo de protección del complejo metálico) puede aumentar significativamente el nivel de estrés oxidativo.

Determinados compuestos orgánicos también pueden producir especies reactivas de oxígeno. El estrés oxidativo generado por el agente reductor ácido úrico puede estar implicado en los accidentes cerebrovasculares y el síndrome metabólico (Lanaspa et al., 2012) (Gherghina et al., 2022). Del mismo modo, la producción de especies reactivas de oxígeno en presencia de homocisteína en homocisteinuria, así como en arteriosclerosis y accidentes cerebrovasculares (Guieu et al., 2022).

Las especies reactivas de oxígeno también se originan a partir de alteraciones ambientales como la exposición a radiaciones ionizantes, rayos X-gamma, luz ultravioleta, contaminantes atmosféricos (ozono, óxido nitroso, monóxido de carbono, dióxido de azufre, tetracloruro de carbono, refinerías, fábricas de papel), combustión de compuestos orgánicos con producción de humo (carnes, cigarrillos, polución industrial), xenobióticos (plaguicidas, herbicidas, fungicidas) y algunos fármacos (paracetamol).

El estrés oxidativo puede dañar los componentes de las células (proteínas, lípidos y ADN), afectando negativamente a sus funciones (Monaghan et al., 2009). Si se trata de los lípidos (ácidos grasos insaturados), se dañan las estructuras ricas en ellos como las membranas celulares y las lipoproteínas. En las primeras se altera la permeabilidad conduciendo al edema y la muerte celular y en la segunda, la oxidación de la LDL, génesis de la placa ateromatosa.

En el caso de las proteínas, se oxidan preferentemente los aminoácidos (fenilalanina, tirosina, triptófano, histidina y metionina) y, como consecuencia, se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, fragmentación de la proteína y formación de grupos carbonilos, impidiendo el normal desarrollo de sus funciones (transportadores iónicos de membranas, receptores y mensajeros celulares, enzimas que regulan el metabolismo celular, etc.).

El daño a los ácidos nucleicos produce bases modificadas, lo que tiene serias consecuencias en el desarrollo de mutaciones y carcinogénesis por una parte, o la pérdida de expresión por daño al gen específico, por otra.

El estrés oxidativo participa en los mecanismos etiopatogénicos primarios de un elevado número de patologías que presentan una alta prevalencia en nuestra sociedad, como es el caso de la aterosclerosis, el cáncer, la diabetes, las patologías neurodegenerativas (Cui et al., 2004) como, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson (Reale et al., 2012) y la enfermedad de Alzheimer (Behl, 2005), o la periodontitis (Sczepanik et al., 2020), y están claramente relacionadas con el envejecimiento (Olanow, 1993) (Pisoschi y Pop, 2015).

Sin embargo, las especies reactivas de oxígeno pueden resultar, bajo ciertas circunstancias, beneficiosas. Así, pueden actuar como mensajeros en la señalización celular, el crecimiento, la diferenciación celular, la eliminación de células infectadas o malignas y la destrucción de organismos patógenos (Niki, 2014). No obstante, deben mantenerse en niveles adecuados, ya que su producción excesiva, como se ha expuesto, puede generar estrés oxidativo y daño celular (Venza et al., 2021) (Zahra et al., 2021).

4. Sustancias antioxidantes y su mecanismo de acción

Los alimentos que forman parte habitual de nuestra dieta contienen diversos nutrientes, algunos de los cuales ofrecen una clara protección frente al estrés oxidativo. Entre ellos, cabe señalar algunas vitaminas, como la vitamina C, los diversos isómeros de tocoferoles y tocotrienoles y los precursores de vitamina A, y algunos metales como cobre, manganeso, selenio y zinc.

Las sustancias antioxidantes pueden actuar en cinco niveles diferentes (Monaghan et al., 2009).

El primer nivel consiste en evitar la reducción univalente del oxígeno mediante sistemas enzimáticos capaces de efectuar la reducción tetravalente consecutiva sin liberar los intermediarios parcialmente reducidos. Esto lo logra con gran eficiencia el sistema citocromo-oxidasa de la cadena respiratoria mitocondrial, responsable de más del 90 % de la reducción del oxígeno en el organismo humano.

El segundo nivel lo constituyen enzimas especializadas en captar el radical anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$).

El tercer nivel hace referencia a un grupo de enzimas especializadas en neutralizar el peróxido de hidrógeno. Entre ellas está la catalasa, que se encuentra en los peroxisomas.

En el cuarto nivel, el radical hidroxilo puede ser neutralizado por el alfa-tocoferol o el alfa-tocotrienol, que son las formas biológicamente activas de la vitamina E, y que por su hidrofobicidad se encuentra en las membranas biológicas, donde su protección es particularmente importante. También la vitamina C o ácido ascórbico que es un agente reductor o donador de electrones y reacciona rápidamente con el radical $OH^{\bullet}$.

Finalmente, una vez producido el daño molecular, existe un quinto nivel de defensa que consiste en la reparación. Está demostrado que las especies reactivas de oxígeno son capaces de provocar

rupturas de la cadena de ADN e inducir la mutagénesis, pero existen mecanismos enzimáticos de reparación que permiten restablecer la información genética.

Los antioxidantes se pueden clasificar en dos categorías: sistemas enzimáticos y sistemas no enzimáticos.

Entre los sistemas enzimáticos antioxidantes nos encontramos:

- Superóxido dismutasa: enzima que cataliza la conversión del anión superóxido a peróxido de hidrógeno. Se han descrito varias formas moleculares: SOD-1, que actúa en el citosol y requiere cobre y zinc; SOD-2, que actúa en la mitocondria y precisa manganeso y SOD-3, que actúa en el espacio extracelular y requiere cobre y zinc (Miao y St. Clair, 2009).
- Glutatión peroxidasa: localizada en el citosol y en la mitocondria, emplea selenio como cofactor. Cataliza la metabolización del peróxido de hidrógeno.
- Catalasa: localizada en los peroxisomas, cataliza la metabolización del peróxido de hidrógeno.

La actividad de estos enzimas depende de la disponibilidad de los oligoelementos con acción antioxidante (cobre, manganeso, selenio y zinc).

Entre los sistemas antioxidantes no enzimáticos encontramos determinadas moléculas que reaccionan directamente con las especies reactivas de oxígeno, evitando el daño a otras moléculas. Los más relevantes son la vitamina E, localizada en la membrana, el ácido dehidroascórbico, el glutatión, los carotenos, el ácido úrico, la taurina y los flavonoides.

El antioxidante, al reaccionar con un radical libre, le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil no tóxico y que, en algunos casos, como la vitamina E, puede regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes. No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados antioxidantes enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que a su vez reaccionan con los radicales libres. Cada antioxidante posee una afinidad hacia un determinado radical libre o hacia varios.

Pero estos antioxidantes también pueden tener un comportamiento prooxidante dependiendo de diversos factores como la dosis (cantidad ingerida), el tipo de antioxidante y la matriz (componentes de los alimentos) en la que se encuentre. Así, son numerosos los estudios que muestran los efectos beneficiosos del empleo de antioxidantes, pero también algunos muestran el efecto contrario (Martin y Appel, 2010) (NCCIH, 2013).

5. Metales con efectos antioxidantes/prooxidantes

Dentro de los metales antioxidantes con potenciales efectos prooxidantes, podemos encontrar el cobre, el manganeso, el selenio y el zinc, los cuales se detallan a continuación.

5.1 Cobre

5.1.1 Funciones bioquímicas

El cobre es un oligoelemento esencial que se encuentra formando parte del centro proteico catalíticamente activo de numerosas metaloenzimas (cuproenzimas), las cuales desempeñan un papel fundamental en las reacciones de óxido-reducción y de transferencia de electrones. Existen

cerca de 12 cuproproteínas en los humanos que participan en un amplio espectro de funciones, entre las cuales se encuentran la citocromo C oxidasa, las aminooxidasas y la zinc/cobre-superóxido dismutasa, cuya actividad es decisiva en la reducción de la concentración de aniones superóxido, así como en la neutralización de los efectos de las especies reactivas de oxígeno (ANSES, 2016) (Collins, 2021).

5.1.2 Valores dietéticos de referencia (*Dietary Reference Values*, DRV)

La EFSA proporciona unos valores de ingestas adecuadas (*Adequate Intake*, AI), es decir, el valor estimado cuando no se puede establecer un valor de ingesta de referencia poblacional (*Population Reference Intake*, PRI) porque no se ha podido determinar un valor de requerimiento medio (*Average Requirement*, AR). Una ingesta adecuada (AI) es el nivel de ingesta diaria media observada en un grupo poblacional de personas aparentemente sanas que es asumido como adecuado.

En el caso del cobre, la EFSA proporciona valores de ingestas adecuadas (AI), definidas en base a la media de ingestas observadas en varios países de la Unión Europea, debido a que no hay evidencia de deficiencia de cobre en la población europea (EFSA, 2015).

Así mismo, la EFSA establece los niveles máximos de ingesta admisible (*tolerable upper intake level*, UL), es decir, los niveles más altos de ingesta diaria a la que es probable que no se observe ningún efecto adverso para la salud en la mayoría de los individuos de la población general, teniendo en cuenta todas las fuentes de la dieta (EFSA, 2006).

En la Tabla 3, se recogen ambos parámetros.

Tabla 3. Valores dietéticos de referencia (DRV) de cobre

Grupo poblacional	Edad	Ingestas adecuadas (*Adequate Intake*, AI) (mg/día) (EFSA, 2015)	Niveles máximos de ingesta admisible (*tolerable upper intake level*, UL) (mg/día) (EFSA, 2006)
Lactantes	7-11 meses	0,4	No descrito
Niños	1-2 años	0,7	1
	3 años	1	1
	4-6 años	1	2
	7-9 años	1	3
	10 años	1,3 (niños) 1,1 (niñas)	3
	11-17 años	1,3 (niños) 1,1 (niñas)	4
Adultos	≥18 años	1,6 (hombres) 1,3 (mujeres)	5
Mujeres embarazadas	≥18 años	1,5	No descrito
Mujeres lactantes	≥18 años	1,5	No descrito

En el muestreo no exhaustivo realizado sobre los 98 complementos alimenticios que contienen las palabras "antiox" o "detox" en su nombre comercial y que se han notificado en el RGSEAA en 2019, 2020 y 2021, el cobre aparece en un 9,2 % de dichos complementos, con unas dosis totales diarias que varían en un rango de 400 µg/día a 1,56 mg/día.

5.1.3 Deficiencia de cobre

El déficit de cobre es relativamente poco frecuente. Debido al amplio rango de enzimas que usan cobre como cofactor, los síntomas de la deficiencia de cobre son diversos. Entre ellos se incluyen:

- Anemia hipocrómica microcítica.
- Leucopenia.
- Neutropenia.
- Mielodisplasia.
- Hipercolesterolemia.
- Despigmentación de la piel y del cabello.
- Formación defectuosa de elastina.
- Síntomas neurológicos, mielopatía, que puede producir un daño irreversible.
- Osteoporosis y escoliosis en niños.

En nuestro medio, la deficiencia de cobre se observa, fundamentalmente, en personas con enfermedades o situaciones que producen malabsorción (por ejemplo, enfermedad celíaca, cirugía digestiva, cirugía bariátrica) o en relación con una ingesta excesiva de zinc en forma de suplementos, el cual compite con la absorción intestinal de cobre (Nishito y Kambe, 2018) (Altarelli et al., 2019).

5.1.4 Riesgo de toxicidad

El cobre es un metal traza esencial que se requiere para la catálisis de varias enzimas celulares importantes. Sin embargo, dado que un exceso de cobre también puede dañar las células debido a su potencial para catalizar la generación de especies reactivas de oxígeno tóxicas, el transporte de cobre y el contenido de cobre celular están estrictamente regulados. En circunstancias normales, los mecanismos homeostáticos impiden que se produzca una sobrecarga de cobre ante una ingesta excesiva. Un exceso de cobre ha demostrado causar problemas de salud solo bajo determinadas circunstancias específicas como la enfermedad de Wilson, la cual está causada por una mutación en ATP7B, una proteína de transporte similar a la ATP7A pero que se expresa en diferentes tejidos. En esta enfermedad, la proteína es defectuosa en el hígado y la excreción es inhibida, lo que hace que el cobre se acumule inicialmente en el hígado, seguido del cerebro, corazón, riñones y ojos. La lesión hepática progresa en el tiempo hasta producir una cirrosis con insuficiencia hepática y síntomas neurológicos y psiquiátricos de gravedad variable (Członkowska et al., 2018).

Además, la toxicidad por cobre se ha relacionado con enfermedades neurodegenerativas, incluyendo la enfermedad de Alzheimer o la enfermedad de Parkinson (Mezzaroba et al., 2019) (Bisaglia y Bubacco, 2020) (Ejaz et al., 2020).

5.2 Manganeso

5.2.1 Funciones bioquímicas

El manganeso es un metal esencial, y es el duodécimo elemento mayoritario en la Tierra, encontrándose en una variedad de sales y, por esta razón, se distribuye en el aire, suelos y agua, lo que hace que se encuentre en legumbres, arroz y nueces, así como en cereales sin refinar, donde se encuentra en cantidades elevadas. Además, se encuentra en pescados, semillas, chocolate, té y algunas frutas, como la piña y el *açaí* (Horning et al., 2015).

El manganeso forma parte del grupo de metales divalentes, Mn (II). Sin embargo, podemos encontrar también en el organismo Mn (III), que para evitar el estrés oxidativo se reduce a Mn (II) por una ferrireductasa, para evitar un exceso de estrés oxidativo (Chen et al., 2015).

El manganeso forma parte de una multitud de enzimas, estando particularmente implicado en el metabolismo de los carbohidratos (como cofactor de enzimas como la piruvato carboxilasa o fosfoenolpiruvato carboxiquinasa e interviniendo en la síntesis y secreción de insulina) y de los lípidos (síntesis de colesterol), en la formación de cartílago y hueso (enzima glucosiltransferasa), en la cicatrización (enzima prolidasa), en la síntesis de monóxido de nitrógeno (arginasa) y en la protección antioxidante (manganeso-superóxido dismutasa). Además, se sabe que el manganeso participa en el desarrollo cerebral, estando relacionadas sus concentraciones con las alteraciones en la biología neuronal y sistema cognitivo (su exceso y deficiencia afectan al sistema nervioso) (Itokawa, 2004) (Aschner y Erikson, 2017) (Erikson y Ashner, 2019).

5.2.2 Valores dietéticos de referencia (DRV)

En la Tabla 4, se recogen los valores de ingestas adecuadas (AI) para el manganeso (EFSA, 2013). Según la EFSA, no se ha podido establecer unos niveles máximos de ingesta admisible (UL) para manganeso debido a los datos limitados existentes en humanos y a que no existe un NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) disponible para efectos críticos en estudios en animales (EFSA, 2006). Sin embargo, el *Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients* sí que establece un nivel máximo de ingesta admisible (UL) de 11 mg/día de manganeso obtenido de los alimentos (IOM, 2001).

Tabla 4. Valores dietéticos de referencia (DRV) de manganeso

Grupo poblacional	Edad	Ingestas adecuadas (*Adequate Intake*, AI) (mg/día) (EFSA, 2013)
Niños	7-11 meses	0,02-0,5
	1-3 años	0,5
	4-6 años	1
	7-10 años	1,5
	11-14 años	2
	15-17 años	3
Adultos	≥18 años	3
Mujeres embarazadas	≥18 años	3
Mujeres lactantes	≥18 años	3

En el muestreo no exhaustivo realizado sobre los 98 complementos alimenticios que contienen las palabras "antiox" o "detox" en su nombre comercial y que se han notificado en el RGSEAA en 2019, 2020 y 2021, el manganeso aparece en un 10,2 % de dichos complementos, con unas dosis totales diarias que varían en un rango de 0,5 mg/día a 3 mg/día.

5.2.3 Déficit de ingesta

No está descrita como tal su deficiencia en humanos (Horning et al., 2015).

5.2.4 Riesgo de toxicidad

La ingesta de manganeso debe ofrecer un equilibrio entre el punto óptimo de su consumo, es decir, el necesario para el mantenimiento de sus funciones biológicas, y entre el exceso, en el cual se producen los efectos adversos cuando se sobrepasa el nivel máximo de ingesta admisible (UL) establecido (ATSDR, 2012) (O'Neal y Zheng, 2015). El exceso de ingesta provoca diferentes sintomatologías relativamente parecidas, aunque no idénticas.

Por un lado, el manganeso parece actuar aumentando el estrés oxidativo como se observa en la Figura 2. Este exceso de manganeso actúa sobre la generación de especies reactivas de oxígeno, que a su vez aumenta el estrés oxidativo en la mitocondria, incrementando las alteraciones en las enfermedades metabólicas, las cuales parecen incidir más en mujeres que en hombres (Li y Yang, 2018).

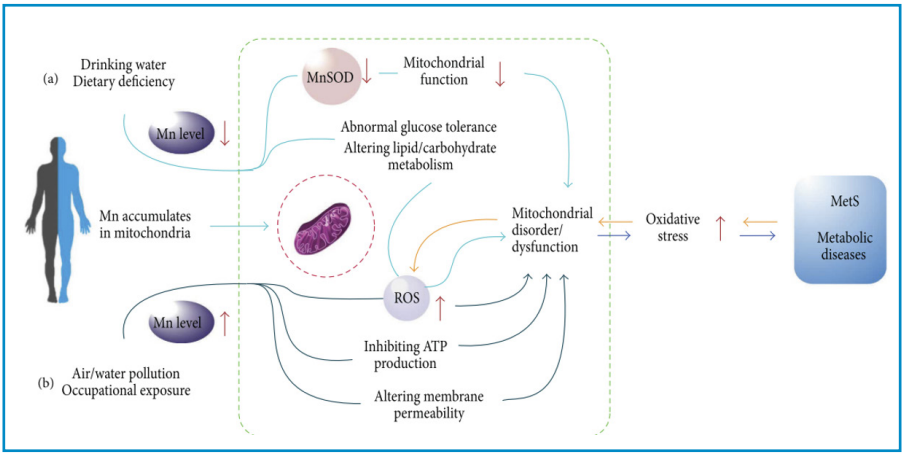

Figura 2. Mecanismos del manganeso en enfermedades metabólicas a través de las vías del estrés oxidativo. **Fuente:** (Li y Yang, 2018).

(a) La deficiencia de manganeso causa una serie de efectos adversos, como el crecimiento insuficiente, la pobre formación de los huesos y defectos del esqueleto, la reducción de la fertilidad y los defectos de nacimiento, así como una tolerancia anormal a la glucosa y un metabolismo lipídico y de carbohidratos alterado tanto en animales como en humanos. Por tanto, la deficiencia de manganeso puede dar lugar a disfunciones mitocondriales a través de la disminución de los niveles de manganeso-superóxido dismutasa y la alteración del metabolismo de los lípidos y los carbohidratos.

(b) La sobrecarga de manganeso puede alterar la función mitocondrial normal mediante el aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS) mitocondriales, inhibiendo la producción de ATP, y alterando la permeabilidad de la membrana; además, puede ocasionar una disfunción o un trastorno mitocondrial y, por último, causar un síndrome metabólico (MetS) o enfermedades metabólicas. Un exceso de ROS y de estrés oxidativo provocaría directamente un síndrome metabólico (MetS) o enfermedades metabólicas. Si aparece el síndrome metabólico (MetS) o las enfermedades metabólicas, esto aumentará la producción de ROS y estrés oxidativo, y se acelerará la disfunción o el trastorno mitocondrial.

Por otro lado, parece ser que un exceso de manganeso podría producir procesos similares a la enfermedad de Parkinson, englobados bajo el término "manganismo", proceso que es irreversible (Chen et al., 2015). Por ello, en los complementos alimenticios se debe asegurar una dosis adecuada de manganeso, puesto que, si se supera el nivel máximo de ingesta admisible (UL), puede conducir al organismo a situaciones adversas.

5.3 Selenio

5.3.1 Funciones bioquímicas

El selenio es un metaloide indispensable para el funcionamiento orgánico, el cual está en los tejidos animales bajo la forma de selenometonina o selenocisteína. La gran mayoría de las funciones del selenio son ejercidas por la intermediación de las selenoproteínas. En el ser humano, las principales selenoproteínas identificadas son las desyodasas, las glutatión peroxidasas, la selenoproteína P y la tiorredoxina reductasa. Las desyodasas están implicadas en el metabolismo de las hormonas tiroideas y el resto de selenoproteínas son enzimas que intervienen en la defensa contra el estrés oxidativo (ANSES, 2016).

5.3.2 Valores dietéticos de referencia (DRV)

La EFSA proporciona valores de ingestas adecuadas (AI) para este metal (EFSA, 2014a). Además, la EFSA establece unos determinados niveles máximos de ingesta admisible (UL) (EFSA, 2006). En la Tabla 5, se recogen ambos parámetros.

Tabla 5. Valores dietéticos de referencia (DRV) de selenio

Grupo poblacional	Edad	Ingestas adecuadas (*Adequate Intake*, AI) (µg/día) (EFSA, 2014a)	Niveles máximos de ingesta admisible (*tolerable upper intake level*, UL) (µg/día) (EFSA, 2006)
Lactantes	7-11 meses	15	No descrito
Niños	1-3 años	15	60
	4-6 años	20	90
	7-10 años	35	130
	11-14 años	55	200
	15-17 años	70	250
Adultos	≥18 años	70	300
Mujeres embarazadas	≥18 años	70	300
Mujeres lactantes	≥18 años	85	300

En el muestreo no exhaustivo realizado sobre los 98 complementos alimenticios que contienen las palabras "antiox" o "detox" en su nombre comercial y que se han notificado en el RGSEAA en 2019, 2020 y 2021, el selenio aparece en un 21,4 % de dichos complementos, con unas dosis totales diarias que varían en un rango de 13,75 µg/día a 132 µg/día.

5.3.3 Déficit de ingesta

Según estimaciones de la AESAN, la ingesta habitual de selenio de la población adulta española es de 86 µg/día, por lo que, en general, no hay riesgo de ingesta insuficiente. Únicamente un número limitado de mujeres por encima de 50 o 70 años puede tener ingestas insuficientes de selenio.

5.3.4 Riesgo de toxicidad

El exceso de selenio, que se puede producir tanto por su contenido en el suelo (Dinh et al., 2018), como por la ingesta elevada de complementos alimenticios, comprende la excesiva producción de especies reactivas de selenio (RSeS), que inducen alteraciones en el ADN, además de ser responsables de inhibir la reparación del ADN dañado. Así, un exceso de RSeS frecuentemente incide en la sintomatología asociada al daño clásico descrito por el exceso de selenio, como son debilidad, náuseas, vómitos, diarrea y síntomas neurológicos, como por ejemplo la ataxia. El consumo en dosis elevadas de complementos a base de selenio induce a una condición médica denominada selenosis, que se manifiesta por daño hepático, desórdenes hematopoyéticos, infertilidad, fracturas en las uñas y alteraciones neurológicas. Los efectos negativos también afectan al sistema endocrino, alterando la síntesis de las hormonas tiroideas, dependientes del selenio.

La suplementación con selenio tiene un efecto sobre el desarrollo de tumores y otras patologías que depende de la dosis y de las características de la población evaluada. Teniendo en cuenta que el contenido de selenio en los alimentos depende del lugar geográfico que se considere, los resultados de estudios realizados en un lugar concreto no pueden extrapolarse a otras poblaciones.

Los niveles de exposición alimentaria a partir de los cuales el selenio se convierte en tóxico y se desarrolla la selenosis son difíciles de establecer, debido a que la toxicidad se ve afectada por los compuestos de selenio presentes en la dieta y, probablemente, por la combinación de otros componentes de la dieta y las interacciones con el genotipo (Fairweather-Tait et al., 2011) (EFSA, 2014a).

5.4 Zinc

5.4.1 Funciones bioquímicas

El zinc es un nutriente esencial implicado en numerosas funciones celulares de tipo catalítico, estructural y regulador. Participa en la actividad de casi 300 enzimas y en las diversas etapas de la síntesis de proteínas, incluyendo la activación de enzimas involucradas en la síntesis de ácidos nucleicos, la reparación del ADN, la regulación de histonas y la lectura del genoma a través de factores de transcripción. Otras funciones que tiene son la estabilización de la estructura terciaria de ciertas hormonas peptídicas y en el metabolismo de los ácidos grasos poliinsaturados y prostaglandinas, así como en la estabilización de las membranas celulares (ANSES, 2016) (Lee, 2018).

En relación con los procesos de óxido-reducción, el zinc ejerce las siguientes funciones:

- Se une a los grupos sulfhidrilo y los protege de la modificación por parte de los oxidantes y las especies reactivas, por tanto, suprime el estrés oxidativo (Lee, 2018).
- Compite con el hierro y el cobre en sus entornos de coordinación y suprime su actividad redox, que puede generar radicales hidroxilo ($OH^{\bullet}$) perjudiciales mediante la reacción de Fenton (Lee, 2005).
- Es un cofactor de la enzima zinc/cobre-superóxido dismutasa (Lee, 2018).

Lee (2018) describe que tanto un exceso como una deficiencia de zinc conduce a un aumento del estrés oxidativo.

Hay que tener en cuenta toda la relación dosis-respuesta biológica para interpretar los efectos del zinc en la biología redox, ya que se observan efectos prooxidantes cuando las concentraciones de zinc son demasiado bajas o demasiado altas (Lee, 2018). Estas concentraciones oscilan en el organismo en el rango picomolar a nivel fisiológico, en contraste con la concentración celular, que está en el rango de cientos de micromolar. Por tanto, dadas las concentraciones en las que se encuentra el zinc, no se considera como un oligoelemento. La idea de su naturaleza como "traza" viene del hecho de que solo se necesitan cantidades bastante pequeñas (2-3 mg) en la ingesta diaria, para mantener una cantidad total de 2-3 g en un humano de 70 kg.

5.4.2 Valores dietéticos de referencia (DRV)

En la Tabla 6, se muestran los requerimientos medios (AR), las ingestas de referencia poblacionales (PRI) y los niveles máximos de ingesta admisible (UL) indicadas por la EFSA (2006, 2014b).

Tabla 6. Valores dietéticos de referencia (DRV) de zinc

Grupo poblacional	Edad	Requerimientos medios (*Average Requirement*, AR) (mg/día) (EFSA, 2014b)	Ingestas de referencia poblacionales (*Population Reference Intake*, PRI) (mg/día) (EFSA, 2014b)	Niveles máximos de ingesta admisible (*tolerable upper intake level*, UL) (mg/día) (EFSA, 2006)
Lactantes	7-11 meses	2,4	2,9	No descrito
Niños	1-3 años	3,6	4,3	7
	4-6 años	4,6	5,5	10
	7-10 años	6,2	7,4	13
	11-14 años	8,9	10,7	18
	15-17 años	11,8 (niños) 9,9 (niñas)	14,2 (niños) 11,9 (niñas)	22
Adultos con nivel de ingesta de fitatos (*Levels of Phytate Intake*, LPI) 300 mg/día	≥18 años	7,5 (hombres) 6,2 (mujeres)	9,4 (hombres) 7,5 (mujeres)	25
Adultos con nivel de ingesta de fitatos (LPI) 600 mg/día	≥18 años	9,3 (hombres) 7,6 (mujeres)	11,7 (hombres) 9,3 (mujeres)	25

Tabla 6. Valores dietéticos de referencia (DRV) de zinc				
Grupo poblacional	**Edad**	**Requerimientos medios (*Average Requirement*, AR) (mg/día) (EFSA, 2014b)**	**Ingestas de referencia poblacionales (*Population Reference Intake*, PRI) (mg/día) (EFSA, 2014b)**	**Niveles máximos de ingesta admisible (*tolerable upper intake level*, UL) (mg/día) (EFSA, 2006)**
Adultos con nivel de ingesta de fitatos (LPI) 900 mg/día	≥18 años	11 (hombres) 8,9 (mujeres)	14 (hombres) 11 (mujeres)	25
Adultos con nivel de ingesta de fitatos (LPI) 1200 mg/día	≥18 años	12,7 (hombres) 10,2 (mujeres)	16,3 (hombres) 12,7 (mujeres)	25
Mujeres embarazadas	≥18 años	(+) 1,3*	(+) 1,6*	25
Mujeres lactantes	≥18 años	(+) 2,4*	(+) 2,9*	25

*Estos valores deben ser añadidos a los AR y PRI para mujeres no embarazadas y no lactantes.

En el muestreo no exhaustivo realizado sobre los 98 complementos alimenticios que contienen las palabras "antiox" o "detox" en su nombre comercial y que se han notificado en el RGSEAA en 2019, 2020 y 2021, el zinc aparece en un 22,5 % de dichos complementos, con unas dosis totales diarias que varían en un rango de 2 mg/día a 20 mg/día.

5.4.3 Déficit de ingesta

Los principales grupos de alimentos que contribuyen a la ingesta de zinc son la carne y los productos cárnicos, los cereales y los productos a base de cereales, y la leche y los productos lácteos (EFSA, 2014b).

Según estimaciones de la AESAN, la ingesta habitual de zinc de la población adulta española es de 7,4 mg/día. En adultos, en más de un 60 % de los varones y en más de un 40 % de las mujeres la ingesta de zinc es insuficiente.

La deficiencia de zinc afecta a más del 15 % de la población mundial (Ciubotariu et al., 2015). Se han descrito carencias de zinc como efecto secundario a problemas de malabsorción, en concreto en dietas con muy alto contenido en fibra, patología digestiva, cirugía gastrointestinal, incluyendo la cirugía bariátrica, alcoholismo, incluyendo, cirrosis hepática, enfermedades renales y desórdenes metabólicos (Lee, 2018). En el caso de consumidores de opioides también se ha detectado un desequilibrio en la distribución de este metal (Ciubotariu et al., 2015).

También hay estudios que asocian su deficiencia con defectos en el sistema inmune y neuronal (Lee, 2018). Los síntomas de la carencia grave de zinc incluyen alteraciones del crecimiento y del desarrollo, retraso en la maduración sexual, erupciones cutáneas, diarrea crónica, alteración de la cicatrización de las heridas y problemas de comportamiento.

5.4.4 Riesgo de toxicidad

La dosis oral letal del 50 % para el zinc es aproximadamente 3 g/kg de peso corporal, que es 10 veces mayor que la del cadmio y 50 veces mayor que la del mercurio (EFSA, 2014b) (Lee, 2018). Es muy raro poder alcanzar estas dosis. Sin embargo, se han descrito tres vías principales de entrada por las que el zinc puede alcanzar dicho nivel tóxico en el cuerpo humano: a través de la inhalación de óxido de

zinc en forma de polvo, a través de la piel o por ingestión. Varios estudios han demostrado que la exposición a altas concentraciones de zinc (hasta milimolar) o a la exposición industrial no produce problemas graves de salud (Plum et al., 2010). La ingesta excesiva de zinc por vía oral (más de 150 mg/día) durante periodos prolongados puede inducir síntomas de deficiencia de cobre (Lee, 2018). Además, se ha demostrado que este metal suprime respuestas antiinflamatorias lo cual provoca estrés oxidativo a nivel celular vía supresión del metabolismo y funciones mitocondriales gracias al aumento de especies reactivas de oxígeno, pudiendo causar eventualmente la muerte celular (Lee, 2018).

6. Muestreo de complementos alimenticios con cobre, manganeso, selenio o zinc

Se ha realizado un muestreo de complementos alimenticios que tienen cobre, manganeso, selenio o zinc en la base de datos RGSEAA. El criterio de búsqueda ha sido que el nombre del mineral estuviera presente en el nombre comercial y/o en la lista de ingredientes y que los productos hubieran sido notificados o modificados recientemente (dependiendo del mineral, 2019-2022). Con estos criterios se han identificado 40 complementos para cada uno de los minerales: cobre, manganeso, selenio y zinc.

En la Tabla 7 se recoge el porcentaje del Valor Nutricional de Referencia (VNR) que cubre la más alta cantidad diaria recomendada por el fabricante para cada uno de los minerales. Según estos datos, el contenido máximo que se ha observado y su nivel máximo de ingesta admisible (UL) correspondiente para cada mineral es: cobre: 2,14 mg/día (UL: 5 mg/día); manganeso: 4 mg/día (UL: 11 mg/día); selenio: 200 µg/día (UL: 300 µg/día) y zinc: 25 mg/día (UL: 25 mg/día).

Tabla 7. Comparación de las cantidades diarias recomendadas más altas de cobre, manganeso, selenio y zinc en complementos identificadas en un muestreo de complementos alimenticios con los niveles máximos de ingesta admisible (UL)

	Cobre (mg/día)	**Manganeso (mg/día)**	**Selenio (µg/día)**	**Zinc (mg/día)**
Nivel máximo de ingesta admisible (UL)	5 (EFSA, 2006)	11 (IOM, 2001)	300 (EFSA, 2006)	25 (EFSA, 2006)
Valor dietético de referencia (DRV) en hombres y mujeres adultos	1,3-1,6 (AI) (EFSA, 2015)	3 (AI) (EFSA, 2013)	70 (AI) (EFSA, 2014a)	6,2-12,7 (AR) (EFSA, 2014b) 7,5-16,3 (PRI) (EFSA, 2014b)
Ingesta habitual adultos	1,3 (Noruega) (VKM, 2017)	4,2 (Suecia) 3,9 (Dinamarca) 2,7-3,1 (Francia) 3,3-3,6 (Irlanda) (VKM, 2018)	86	7,4
Máximo porcentaje del Valor Nutricional de Referencia (VNR) del etiquetado	214,2 %	200 %	364 %	250 %
Cantidad máxima en complementos calculada a través del porcentaje del VNR	2,14	4	200	25

AI: *Adequate Intake* (ingesta adecuada); AR: *Average Requirement* (valor de requerimiento medio); PRI: *Population Reference Intake* (valor de ingesta de referencia poblacional, 97,8 %).

En el caso del cobre, la ingesta habitual en adultos noruegos es de 1,3 mg/día y el complemento con más cobre supone ingerir 2,14 mg/día, por lo que no se llegaría a superar el nivel máximo de ingesta admisible (UL).

En el caso del manganeso, en general la ingesta (en otros países) cubre la recomendación. Suponiendo una ingesta de 4,2 mg/día (Suecia) y un complemento que supusiera 4 mg/día (cantidad máxima diaria más alta) no se alcanzaría el nivel máximo de ingesta admisible (UL).

En el caso del selenio, la ingesta habitual en adultos (86 µg/día) alcanza la ingesta adecuada (AI), aunque sumando la cantidad máxima diaria más alta de un complemento (200 µg/día) a dicha ingesta habitual, la cantidad se acercaría bastante al nivel máximo de ingesta admisible (UL) (supondría el 95,33 % con respecto a dicho límite).

En el caso del zinc, puede no llegarse a la recomendación en todos los casos con la ingesta habitual en adultos (7,4 mg/día), sin embargo, solo teniendo en cuenta la cantidad máxima diaria más alta de uno de los complementos (25 mg/día) se alcanzaría el nivel máximo de ingesta admisible (UL) y sumando esta a la ingesta habitual se superaría dicho límite.

Por tanto, y considerando los 40 complementos muestreados para cada mineral, salvo en el caso de un complemento con zinc, no se superaría el nivel máximo de ingesta admisible (UL) sumando la cantidad aportada por la dieta y la de los complementos alimenticios con mayor contenido en estos minerales.

Conclusiones del Comité Científico

- El estrés oxidativo es uno de los mecanismos etiopatogénicos de un elevado número de patologías que presentan una alta prevalencia en nuestra sociedad.
- Los metales divalentes cobre, manganeso, selenio y zinc han demostrado contribuir a la protección de las células frente al daño oxidativo actuando como cofactores de sistemas enzimáticos antioxidantes. Estos minerales (metales) están presentes como ingredientes en un elevado número de alimentos comunes y complementos alimenticios, y cuentan con la aprobación de declaraciones de propiedades saludables relacionadas con la protección de las células frente al daño oxidativo en el marco reglamentario europeo.
- La bibliografía científica sugiere que estos metales, en determinadas dosis o condiciones, podrían tener efectos prooxidantes. Se recomienda la realización de estudios con una adecuada metodología para evaluar en profundidad estos efectos y bajo qué condiciones se producen, así como los efectos adversos que pudieran derivarse de los mismos.
- La suplementación de cobre, manganeso, selenio y zinc a través de alimentos enriquecidos y complementos alimenticios en la población adulta sana resulta ser segura en las condiciones establecidas por la normativa europea.
- Sin embargo, según la bibliografía científica, los complementos alimenticios con antioxidantes no han demostrado una disminución del riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares o cáncer.
- Además, en el caso de mujeres embarazadas o lactantes, niños, ancianos y personas con determinadas patologías, solo deben consumirse complementos tras haberlo consultado con un

profesional sanitario, ya que hay poca información sobre la seguridad de muchas sustancias en estas etapas y, a veces, pueden tener interacciones con medicamentos. En ningún caso deben sustituir al uso de medicamentos sin una supervisión médica adecuada.

- Los compuestos que protegen a las células frente al daño oxidativo se encuentran de manera natural en muchos alimentos. Por tanto, una dieta variada y equilibrada, es suficiente para cubrir las necesidades nutricionales en cuanto a compuestos con acción antioxidante en la población sana. Únicamente en el caso del zinc se produce un cierto déficit en adultos españoles, ya que en más de un 60 % los varones y en más de un 40 % de las mujeres la ingesta de zinc es insuficiente.
- Las cantidades máximas de minerales que se podrían usar en los complementos alimenticios por dosis diaria de consumo recomendada por el fabricante, así como la que se podrían añadir a los alimentos, se deberían establecer teniendo en cuenta los siguientes factores:
  - los niveles máximos de seguridad de vitaminas y minerales, tal como se hayan establecido mediante la evaluación científica del riesgo a partir de datos científicos reconocidos, teniendo en cuenta, según proceda, los diferentes grados de sensibilidad de las distintas categorías de consumidores;
  - la ingesta de vitaminas y minerales a partir de otras fuentes de alimentación, tal y como ya prevé la Directiva 2002/46/CE sobre complementos alimenticios (UE, 2002) y el Reglamento (CE) Nº 1925/2006 (UE, 2006b), sobre la adición de vitaminas, minerales y otras sustancias determinadas a los alimentos.

Referencias

AESAN (2012). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre condiciones de uso de determinadas sustancias distintas de vitaminas, minerales y plantas para ser empleadas en complementos alimenticios-1. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 17, pp: 11-234.

AESAN (2013). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre condiciones de uso de determinadas sustancias distintas de vitaminas, minerales y plantas para ser empleadas en complementos alimenticios-2. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 18, pp: 71-92.

AESAN (2014). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre condiciones de uso de determinadas sustancias para ser empleadas en complementos alimenticios-3. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 19, pp: 51-93.

AESAN (2015). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre condiciones de uso de determinadas sustancias para ser empleadas en complementos alimenticios-4. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 22, pp: 79-131.

AESAN (2017). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre advertencias en el etiquetado de determinadas sustancias para ser empleadas en complementos alimenticios-5. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 25, pp: 41-45.

Altarelli, M., Ben-Hamouda, N., Schneider, A. y Berger, M.M. (2019). Copper deficiency: causes, manifestations, and treatment. *Nutrition in Clinical Practice*, 34 (4), pp: 504-513.

ANSES (2016). Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Actualisation des repères du PNNS: élaboration des références nutritionnelles. Avis de l'Anses. Rapports d'expertise collective. Disponible en: https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT2012SA0103Ra-2.pdf [acceso: 28-06-22].

Aschner, M. y Erikson, K. (2017). Manganese. *Advances in Nutrition*, 8 (3), pp: 520-521.

ATSDR (2012). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Manganese. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Disponible en: https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=102&tid=23 [acceso: 22-03-22].

Aune, D., Keum, N., Giovannucci, E., Fadnes, L.T., Boffetta, P., Greenwood, D.C., Tonstad, S., Vatten, L.J., Riboli, E. y Norat, T. (2018). Dietary intake and blood concentrations of antioxidants and the risk of cardiovascular disease, total cancer, and all-cause mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 108 (5), pp: 1069-1091.

Ballester, M. (1996). Antioxidantes, radicales libres y salud. Un enfoque químico-orgánico-físico. *Medicina Clínica*, 107, pp: 509-515.

Behl, C. (2005). Oxidative stress in Alzheimer's disease: implications for prevention and therapy. *Subcellular Biochemistry*, 38, pp: 65-78.

Bisaglia, M. y Bubacco, L. (2020). Copper Ions and Parkinson's Disease: Why Is Homeostasis So Relevant? *Biomolecules*, 10 (2): 195, pp: 1-14.

Browning, J.D. y Horton, J.D. (2004). Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *The Journal of Clinical Investigation*, 114, pp: 147-152.

Cheeseman, K.H. y Slater, T.F. (1993). Free Radicals in Medicine. *British Medical Bulletin*, volumen 49, número 3. Londres. Churchill Livingstone.

Chen, P., Chakraborty, S., Mukhopadhyay, S., Lee, E., Paoliello, M.M.B., Bowman, A.B. y Aschner, M. (2015). Manganese homeostasis in the nervous system. *Journal of Neurochemistry*, 134 (4), pp: 601-610.

Ciubotariu, D., Ghiciuc, C.M. y Lupuşoru, C.E. (2015). Zinc involvement in opioid addiction and analgesia–should zinc supplementation be recommended for opioid-treated persons? *Substance abuse treatment, prevention, and policy*, 10 (1), pp: 1-14.

Collins, J.F. (2021). Copper nutrition and biochemistry and human (patho) physiology. *Advances in Food and Nutrition Research*, 96, pp: 311-364.

Cui, K., Luo, X., Xu, K. y Murthy, M.R.V. (2004). Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 28 (5), pp: 771-799.

Członkowska, A., Litwin, T., Dusek, P., Ferenci, P., Lutsenko, S., Medici, V., Rybakowski, J.K., Weiss, K.H. y Schilsky, M.L. (2018). Nature Reviews Disease Primers article: Wilson disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 4 (1), pp: 21.

Dinh, Q.T., Cui, Z., Huang, J., Tran, T.A.T., Wang, D., Yang, W., Zhou, F., Wang, M., Yu, D. y Liang, D. (2018). Selenium distribution in the Chinese environment and its relationship with human health: A review. *Environment International*, 112, pp: 294-309.

EFSA (2006). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Committee on Food. Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. Disponible en: https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/efsa_rep/blobserver_assets/ndatolerableuil.pdf [acceso: 22-03-22].

EFSA (2009a). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to copper and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 263, 1726), function of the immune system (ID 264), maintenance of connective tissues (ID 265, 271, 1722), energy-yielding metabolism (ID 266), function of the nervous system (ID 267), maintenance of skin and hair pigmentation (ID 268, 1724), iron transport (ID 269, 270, 1727), cholesterol metabolism (ID 369), and glucose metabolism (ID 369) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 7 (9): 1211, pp: 1-21.

EFSA (2009b). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to manganese and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 309), maintenance of bone (ID 310), energy-yielding metabolism (ID 311), and cognitive function (ID 340) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 7 (9): 1217, pp: 1-17.

EFSA (2009c). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to selenium and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 277, 283, 286, 1289, 1290, 1291, 1293, 1751), function of the immune system (ID 278), thyroid function (ID 279, 282, 286, 1289, 1290, 1291, 1293), function of the heart and blood vessels (ID 280), prostate function (ID 284), cognitive function (ID 285) and spermatogenesis (ID 396) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal,* 7 (9): 1220, pp: 1-24.

EFSA (2009d). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to zinc and function of the immune system (ID 291, 1757), DNA synthesis and cell division (ID 292, 1759), protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 294, 1758), maintenance of bone (ID 295, 1756), cognitive function (ID 296), fertility and reproduction (ID 297, 300), reproductive development (ID 298), muscle function (ID 299), metabolism of fatty acids (ID 302), maintenance of joints (ID 305), function of the heart and blood vessels (ID 306), prostate function (ID 307), thyroid function (ID 308), acid-base metabolism (ID 360), vitamin A metabolism (ID 361) and maintenance of vision (ID 361) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal,* 7 (9): 1229, pp: 1-34.

EFSA (2010). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to selenium and maintenance of normal hair (ID 281), maintenance of normal nails (ID 281), protection against heavy metals (ID 383), maintenance of normal joints (ID 409), maintenance of normal thyroid function (ID 410, 1292), protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 410, 1292), and maintenance of the normal function of the immune system (ID 1750) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 8 (10): 1727, pp: 1-18.

EFSA (2013). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for manganese. *EFSA Journal,* 11 (11): 3419, pp: 1-44.

EFSA (2014a). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for selenium. *EFSA Journal,* 12 (10): 3846, pp: 1-67.

EFSA (2014b). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for zinc. *EFSA Journal*, 12 (10): 3844, pp: 1-76.

EFSA (2015). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. *EFSA Journal*, 13 (10): 4256, pp: 1-51.

EFSA (2017). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion: Guidance for the scientific requirements for health claims related to antioxidants, oxidative damage and cardiovascular health. *EFSA Journal,* 16 (1): 5136, pp: 1-21.

Ejaz, H.W., Wang, W. y Lang, M. (2020). Copper Toxicity Links to Pathogenesis of Alzheimer's Disease and Therapeutics Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (20): 7660, pp: 1-33.

Erikson, K.M. y Aschner, M. (2019). Manganese: Its Role in Disease and Health. *Metal Ions in Life Sciences*, 19, pp: 253-266.

Fairweather-Tait, S.J., Bao, Y., Broadley, M.R., Collings, R., Ford, D., Hesketh, J.E. y Hurst, R. (2011). Selenium in human health and disease. *Antioxidants Redox Signal*, 14 (7), pp: 1337-1383.

Franzini, E., Sellak, H., Hakim, J. y Pasquier, C. (1993). Oxidative damage to lysozyme by the hidroxyl radical comparative effects of scavengers. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Acta, 1203 (1), pp: 1-17.

Gherghina, M.E., Peride, I., Tiglis, M., Neagu, T.P., Niculae, A. y Checherita, I.A. (2022). Uric Acid and Oxidative Stress-Relationship with Cardiovascular, Metabolic, and Renal Impairment. *International Journal of Molecular Sciences*, 23 (6): 3188, pp: 1-16.

Guieu, R., Ruf, J. y Mottola, G. (2022). Hyperhomocysteinemia and cardiovascular diseases. *Annales de Biologie Clinique*, 80 (1), pp: 7-14.

Horning, K.J., Caito, S.W., Tipps, K.G., Bowman, A.B. y Aschner, M. (2015). Manganese is Essential for Neuronal Health. *The Annual Review of Nutrition*, 35 (1), pp: 71-108.

IOM (2001). Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. Washington, D.C. National Academies Press. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK222310/ [acceso: 20-06-22].

Itokawa, Y. (2004). Manganese. Nippon rinsho. *Japanese Journal of Clinical Medicine*, 62 (12), pp: 308-310.

Lanaspa, M.A., Sanchez-Lozada, L.G., Choi, Y.J., Cicerchi, C., Kanbay, M., Roncal-Jimenez, C.A., Ishimoto, T., Li, N., Marek, G., Duranay, M., Schreiner, G., Rodriguez-Iturbe, B., Nakagawa, T., Kang, D.H., Sautin, Y.Y. y Johnson, R.J. (2012). Uric acid induces hepatic steatosis by generation of mitochondrial oxidative stress: potential role in fructose-dependent and - independent fatty liver. *Journal of Biological Chemistry*, 287, pp: 40732-40744.

Lee, D.H., Folsom, A.R. y Jacobs Jr., D.R. (2005). Iron, zinc, and alcohol consumption and mortality from cardiovascular diseases: the Iowa Women's Health Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81 (4), pp: 787-791.

Lee, S.R. (2018). Critical Role of Zinc as Either an Antioxidant or a Prooxidant in Cellullar Systems. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018: 9156285, pp: 1-11.

Li, L. y Yang, X. (2018). The essential element manganese, oxidative stress, and metabolic diseases: links and interactions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018: 7580707, pp: 1-11.

Martin, K.R. y Appel, C.L. (2010). Polyphenols as dietary supplements: A double-edged sword. *Nutrition and Dietary Supplements*, 2, pp: 1-12.

Mezzaroba, L., Alfieri, D.F., Colado, A.N. y Vissoci, E.M. (2019). The role of zinc, copper, manganese and iron in neurodegenerative diseases. *Neurotoxicology*, 74, pp: 230-241.

Miao, L. y St. Clair, D.K. (2009). Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 47 (4), pp: 344-356.

Monaghan, P., Metcalfe, N.B. y Torres, R. (2009). Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements and interpretation. *Ecology Letters*, 12 (1), pp: 75-92.

NCCIH (2013). National Center for Complementary and Integrative Health. National Institutes of Health. U.S. Department of Health & Human Services. Antioxidants and Health: An Introduction. Disponible en: https://nccih.nih.gov/health/antioxidants/introduction.htm [acceso: 20-06-22].

Niki, E. (2014). Antioxidants: basic principles, emerging concepts, and problems. *Biomedical Journal*, 37 (3), pp: 106-111.

Nishito, Y. y Kambe, T. (2018). Absorption mechanisms of iron, copper, and zinc: an overview. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 64 (1), pp: 1-7.

O'Neal, S.L. y Zheng, W. (2015). Manganese Toxicity Upon Overexposure: a Decade in Review. *Current Environmental Health Reports*, 2 (3), pp: 315-328.

Olanow, C.W.J. (1993). A scientific rationale for protective therapy in Parkinson's disease. *Journal of neural transmission. General Section*, 91 (2-3), pp: 161-168.

Pisoschi, A.M. y Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, pp: 55-74.

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D. y Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017: 8416763, pp: 1-13.

Plum, L., Rink, L. y Haase, H. (2010). The essential toxin: impact of zinc on human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7 (4), pp: 1342-1365.

Reale, M., Pesce, M., Priyadarshini, M., Kamal, M.A. y Patruno, A. (2012). Mitochondria as an easy target to oxidative stress events in Parkinson's disease. *CNS Neurological Disorders Drug Targets*, 11 (4), pp: 430-438.

Sczepanik, F.S.C., Grossi, M.L., Casati, M., Goldberg, M., Glogauer, M., Fine, N. y Tenenbaum, H.C. (2020). Periodontitis is an inflammatory disease of oxidative stress: We should treat it that way. *Periodontology 2000*, 84 (1), pp: 45-68.

Sies, H., Berndt, C. y Jones, D.P. (2019). Oxidative Stress. *The Annual Review of Biochemistry*, 86, pp: 715-748.

UE (2002). Directiva 2002/46/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 10 de junio de 2002, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de complementos alimenticios. DO L 183 de 12 de julio de 2002, pp: 51-57.

UE (2006a). Reglamento (CE) Nº 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. DO L 404 de 30 de diciembre de 2006, pp: 9-25.

UE (2006b). Reglamento (CE) Nº 1925/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 2006, sobre la adición de vitaminas, minerales y otras sustancias determinadas a los alimentos. DO L 404 de 30 de diciembre de 2006, pp: 26-38.

UE (2011). Reglamento (UE) Nº 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 25 de octubre de 2011, sobre la información alimentaria facilitada al consumidor y por el que se modifican los Reglamentos (CE) Nº 1924/2006 y (CE) Nº 1925/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, y por el que se derogan la Directiva 87/250/CEE de la Comisión, la Directiva 90/496/CEE del Consejo, la Directiva 1999/10/CE de la Comisión, la Directiva 2000/13/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, las Directivas 2002/67/CE, y 2008/5/CE de la Comisión, y el Reglamento (CE) Nº 608/2004 de la Comisión. DO L 304 de 22 de noviembre de 2011, pp: 18-63.

UE (2012). Reglamento (UE) Nº 432/2012 de la Comisión, de 16 de mayo de 2012, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños. DO L 136 de 25 mayo de 2012, pp: 1-40.

Venza, I., Venza, M., Visalli, M., Lentini, G., Teti, D. y d'Alcontres, F.S. (2021). ROS as Regulators of Cellular Processes in Melanoma. *Oxidative Medicine Cellular Longevity,* 2021: 1208690, pp: 1-19.

VKM (2017). Vitenskapskomiteen for mattrygghet (Norwegian Scientific Committee for Food Safety). Assessment of copper intake in relation to tolerable upper intake levels. Opinion of the Panel on Nutrition, Dietetic Products, Novel Food and Allergy of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety. VKM Report 2017: 19. Disponible en: https://vkm.no/download/18.645b840415d03a2fe8f26258/1499329257334/4de098adad.pdf [acceso: 20-06-22].

VKM (2018). Vitenskapskomiteen for mattrygghet (Norwegian Scientific Committee for Food Safety). Assessment of dietary intake of manganese in relation to tolerable upper intake. Opinion of the Panel on Nutrition, Dietetic Products, Novel Food and Allergy of the Norwegian Scientific Committee for Food and Environment. VKM Report 2018: 02. Disponible en: https://vkm.no/download/18.18fcfdf1161d31d8fb92463b/1521019598516/Assessment%20of%20dietary%20intake%20of%20manganese%20in%20relation%20to%20tolerable%20upper%20intake%20level.pdf [acceso: 20-06-22].

Zahra, K.F., Lefter, R., Ali, A., Abdellah, E.C., Trus, C., Ciobica, A. y Timofte, D. (2021). The Involvement of the Oxidative Stress Status in Cancer Pathology: A Double View on the Role of the Antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021: 9965916, pp: 1-25.

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la prospección de peligros químicos de interés en seguridad alimentaria en España (2)

Número de referencia: AESAN-2022-006

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 29 de junio de 2022

Grupo de trabajo

María José González Muñoz (Coordinadora), Houda Berrada Ramdani, Sonia Marín Sillué, Francisco José Morales Navas, Silvia Pichardo Sánchez y Ana María Rivas Velasco

Comité Científico

Carlos Alonso Calleja
Universidad de León

Carlos M. Franco Abuín
Universidade de Santiago de Compostela

Sonia Marín Sillué
Universitat de Lleida

Magdalena Rafecas Martínez
Universitat de Barcelona

Houda Berrada Ramdani
Universitat de València

Ángel Gil Izquierdo
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Francisco J. Morales Navas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

María del Carmen Recio Iglesias
Universitat de València

Irene Bretón Lesmes
Hospital Gregorio Marañón de Madrid

María José González Muñoz
Universidad de Alcalá de Henares

Victoria Moreno Arribas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Ana María Rivas Velasco
Universidad de Granada

Araceli Díaz Perales
Universidad Politécnica de Madrid

Isabel Hernando Hernando
Universitat Politècnica de València

Silvia Pichardo Sánchez
Universidad de Sevilla

Gloria Sánchez Moragas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Pablo Fernández Escámez
Universidad Politécnica de Cartagena

Esther López García
Universidad Autónoma de Madrid

María del Puy Portillo Baquedano
Universidad del País Vasco

Antonio Valero Díaz
Universidad de Córdoba

Secretario técnico
Vicente Calderón Pascual

Gestión técnica del informe AESAN: Paula Arrabal Durán

Resumen

A lo largo de la cadena alimentaria pueden estar presentes, incorporarse o producirse distintos peligros de tipo químico que podrían suponer un riesgo para el consumidor.

Ya en el 2018, el Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) realizó una revisión de los peligros químicos de mayor interés para la seguridad alimentaria en España que no contaban con una regulación específica, identificándolos y señalando aquellos alimentos o condiciones que, *a priori*, podrían implicar un mayor riesgo para el consumidor, con el fin de realizar, eventualmente, estudios prospectivos. En este nuevo informe se han contemplado los siguientes peligros químicos y matrices: aluminio, antimonio, cromo (VI), antraquinonas,

aflatoxinas en avellanas, melamina, análogos del bisfenol A (BPA) y micotoxinas de *Aspergillus* (esterigmatocistina).

Como en el informe anterior, se ha descrito, de cada uno de ellos, su identificación y caracterización, la evaluación de la exposición, incluyéndose recomendaciones y consideraciones futuras.

Por otro lado, la identificación de nuevos peligros para los que puede producirse una exposición significativa, o la evaluación del riesgo derivado de una exposición o susceptibilidad nuevas o incrementadas significativamente a un peligro conocido es importante, no solo a efectos de un eventual control de estos peligros emergentes, sino también de promover la investigación y mejorar su conocimiento por parte de los consumidores y de la comunidad científica.

Palabras clave

Prospectivo, riesgos químicos, aluminio, antimonio, cromo (VI), antraquinona, aflatoxinas en avellanas, melamina, análogos del bisfenol A, BPA, micotoxinas de *Aspergillus*, esterigmatocistina.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the prospection of chemical hazards of interest in food safety in Spain (2)

Abstract

Throughout the food chain, various chemical hazards may be present, incorporated or produced, which may pose a risk to the consumer.

In 2018, the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) reviewed the most relevant chemical hazards for food safety in Spain, which had no specific regulation, identifying them and pointing out those foods or conditions which, *a priori,* could imply a greater risk for the consumer, to perform prospective studies, eventually. This new report addresses the following chemical hazards and matrixes: aluminium, antimony, chromium (VI), anthraquinones, aflatoxins in hazelnuts, melamine, bisphenol A (BPA) analogues and *Aspergillus* mycotoxins (sterigmatocystin).

As in the previous report, the identification and characterisation, exposure assessment, recommendations and future considerations have been described for each of them.

On the other hand, it is essential to identify new hazards for which significant exposure may occur or to assess the risk arising from new or significantly increased exposure or susceptibility to a known hazard, not only for the eventual control of these emerging hazards but also to promote research and to improve consumer and scientific understanding.

Key words

Prospective, chemical hazards, aluminium, antimony, chromium (VI), anthraquinones, aflatoxins in hazelnuts, melamine, bisphenol A analogues, BPA, *Aspergillus* mycotoxins, sterigmatocystin.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo) González, M.J. (Coordinadora), Berrada, H., Marín, S., Morales, F.J., Pichardo, S. y Rivas, A.M. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la prospección de peligros químicos de interés en seguridad alimentaria en España (2). *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2022, 36, pp: 113-159.

1. Introducción

A lo largo de la cadena alimentaria pueden estar presentes, incorporarse o producirse distintos peligros de tipo químico que pueden suponer un riesgo para el consumidor. Los programas de control oficial tratan de garantizar la realización de controles de los peligros de interés en seguridad alimentaria en función del riesgo, pero solo afectan a aquellos parámetros con límites máximos fijados en determinados alimentos. Sin embargo, existen otros peligros de interés en seguridad alimentaria para los que no existe una regulación específica o existe, pero solo en determinados alimentos, que pueden ser objeto de programas de prospección con el fin de obtener datos que, además de proteger al consumidor de una exposición puntual a un peligro, permitan realizar una evaluación del riesgo. Además, la identificación de nuevos peligros para los que puede producirse una exposición significativa, o la evaluación del riesgo derivado de una exposición o susceptibilidad nuevas o incrementadas significativamente a un peligro conocido, es importante, no solo a efectos de un eventual control de estos peligros emergentes, sino también de promover la investigación y mejorar su conocimiento por parte de los consumidores y de la comunidad científica. En este sentido, en 2018, el Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) publicó un primer informe sobre la prospección de peligros químicos de interés en seguridad alimentaria en España (AESAN, 2018) en el cual se señalaban los siguientes:

- Cilindrospermopsina (toxina de cianobacterias) en agua de bebida (no envasada).
- Cloropropanoles y glicidol en alimentos infantiles.
- Furano y derivados en alimentos procesados en general y alimentos infantiles en particular.
- Hidrocarburos de aceites minerales.
- Micotoxinas producidas por hongos del género *Claviceps* en cereales y alimentos derivados.
- Toxinas de *Alternaria* en frutas, hortalizas, cereales y tomate.
- Micotoxinas de *Fusarium* (eniatinas, nivalenol) en cereales.
- Alcaloides de la pirrolizidina en alimentos infantiles, complementos alimenticios, miel, polen, té, infusiones y cereales.

Con el fin de incorporar más peligros de interés a posibles estudios prospectivos, se solicita al Comité Científico que realice una nueva revisión de los peligros de mayor interés en seguridad alimentaria en España que no cuenten con una regulación específica, identificándolos y señalando aquellos alimentos o condiciones que, *a priori*, podrían implicar un mayor riesgo para el consumidor.

2. Peligros químicos

Se han contemplado los siguientes peligros químicos y matrices:

- Aluminio.
- Antimonio.
- Cromo (VI).
- Antraquinonas.
- Aflatoxinas en avellanas.

- Melamina.
- Análogos del bisfenol A (BPA).
- Micotoxinas de *Aspergillus* (esterigmatocistina).

3. Aluminio

3.1 Identificación y caracterización del peligro

En el informe del Comité Científico de la AESAN en relación al posible riesgo del aluminio (Al) dietético de 2009 se describen ampliamente los peligros de la exposición dietética a este metal, al ser esta la principal vía de exposición de la población general (AESAN, 2009).

Su absorción es escasa, siendo su bioacumulación y su persistencia en el organismo las que definen su toxicidad a largo plazo. Su órgano diana es el cerebro (Exley, 1999), de ahí su relación con enfermedades neurodegenerativas, especialmente la enfermedad de Alzheimer. También se acumula en los huesos, incrementando la posibilidad de ruptura, sobre todo en adolescentes. Según los últimos datos de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS), se considera improbable que el Al sea genotóxico y carcinogénico para el ser humano.

La EFSA estableció un LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) de 50 mg aluminio/kg peso corporal/día (rango 50-100) y un NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) de 10 mg aluminio/kg p.c./día (rango 10-100), utilizando como criterios de valoración la neurotoxicidad, la toxicidad testicular, la embriotoxicidad y la toxicidad del neurodesarrollo (EFSA, 2008a).

La OMS fijó una Ingesta Semanal Tolerable Provisional (ISTP) de 2 mg aluminio/kg p.c./semana y la EFSA indica una Ingesta Semanal Tolerable (IST) de 1 mg aluminio/kg p.c./semana. El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) utilizó el estudio publicado por Poirier et al. (2011) como base para la evaluación, obteniendo un NOAEL de 30 mg aluminio/kg p.c./día, aplicando un factor de incertidumbre de 100 (JECFA, 2011).

3.2 Evaluación de la exposición y riesgos

En todas las evaluaciones del riesgo de ingesta de Al a través de los alimentos y/o aditivos, realizadas tanto por la EFSA como por la OMS, se ha identificado este metal como un posible riesgo para la salud, fundamentalmente para la población infantil, debido a que su ingesta supera los valores de referencia establecidos.

La mayor parte de la ingestión de Al proviene de la alimentación, a través de diferentes formas: alimentos contaminados por Al, debido a su contenido natural, agua y alimentos industrializados que poseen el Al como conservante y/o colorante (Crisponi et al., 2013) o por migración de materiales en contacto con alimentos (AESAN, 2009).

La EFSA estimó que la exposición para los adultos oscilaba entre 0,2 a 1,5 mg aluminio/kg p.c./semana y, para los niños, entre 0,7 a 2,3 mg aluminio/kg p.c./semana, concluyendo que es probable que la IST de 1 mg aluminio/kg p.c./semana sea superada por una parte importante de la población europea (EFSA, 2008a).

3.2.1 Aguas

La forma más biodisponible de Al para ser absorbida por el intestino se presenta en el agua potable y su presencia es debida a la utilización del sulfato de Al como agente floculante en el tratamiento de suministros de agua. No obstante, la ingesta de Al a través del agua potable generalmente es baja. La contaminación máxima de Al permitida en agua potable es variable y dependiente del país, teniendo valores que van de 0,03 a 0,2 mg/l de agua (Matías et al., 2018). En varias ciudades se han detectado concentraciones de Al en el agua potable de 0,4 a 1 mg/l (ATSDR, 2008).

En aguas naturales, los niveles de Al generalmente son menores de 0,1 mg/l (ATSDR, 2008). La *United States Environmental Protection Agency* (EPA) ha recomendado un nivel de contaminación máximo secundario (*Secondary Maximum Contaminant Level,* SMCL) de 0,05 a 0,2 mg/l para Al en el agua potable (EPA, 2022). El SMCL no está basado en niveles que pueden afectar la salud de seres humanos o animales, sino en sabor, olor o color. Por su parte, la F*ood and Drug Administration* (FDA) ha establecido un límite para Al en agua en botella de 0,2 mg/l (ATSDR, 2008).

3.2.2 Alimentos

En 2008, la EFSA evaluó la exposición de la población europea al Al vía alimentaria resultando en 0,2-1,5 mg aluminio/kg p.c./semana para la población general, pudiendo llegar a 2,3 mg aluminio/kg p.c/semana en niños, superando la IST y la ISTP (EFSA, 2008a). En 2012, el JECFA evaluó la exposición a este metal y estableció también que la población infantil, consumidora regular de los alimentos que contienen mayor cantidad de aditivos con Al, cereales y derivados (pan, galletas, pasteles, etc.) podría exceder la ISTP. Por tanto, estos dos organismos han identificado este metal como un posible riesgo para la salud, fundamentalmente para la población infantil, debido a que su ingesta supera los valores de referencia establecidos (JECFA, 2012).

El consumo diario de una persona adulta es aproximadamente 7 a 9 mg de Al al día a través de los alimentos.

3.2.3 Aditivos

La Comisión Europea, en 2010, propuso reevaluar todos los aditivos alimentarios que estaban permitidos antes del 20 de enero de 2009, estableciendo como fecha límite para los aditivos alimentarios que contienen Al en 2018 (UE, 2010a).

En 2013, la EFSA evaluó la exposición al Al procedente de cinco aditivos alimentarios que lo contienen (E-523, E-541 (i, ii), E-554, E-556 y E-559) en los escenarios de que todos los alimentos que contienen dichos aditivos se consumen y en sus límites máximos. En ambos escenarios, las ingestas estimadas superaban muy por encima la ISTP y la IST (EFSA, 2013a).

Los compuestos de Al permitidos en la fabricación de aditivos se encuentran regulados en el Reglamento (UE) Nº 380/2012, por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) Nº 1333/2008 en lo que se refiere a las condiciones de utilización y los niveles de utilización de aditivos alimentarios que contienen Al (UE, 2012a). De hecho, los aditivos que contienen Al no están permitidos en las fórmulas infantiles ni alimentos procesados infantiles a base de cereales.

El Panel de la EFSA sobre Aditivos Alimentarios y Fuentes de Nutrientes Agregados a los Alimentos (*Scientific Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food*, ANS) emitió una opinión científica reevaluando la seguridad de los sulfatos de Al (E-520, E-521, E-522 y E-523) y el fosfato de sodio y aluminio, ácido (E-541) como aditivos alimentarios en 2018, concluyendo que estos compuestos no son motivo de preocupación para la seguridad en los usos y niveles de uso autorizados actuales (EFSA, 2018).

3.2.4 Migración

La contribución de los alimentos cocinados en utensilios de Al, del papel de Al utilizado como envoltorio o de los botes de bebida es prácticamente inapreciable (del orden de 0,1 mg/día). La única excepción ocurre al cocinar o almacenar por largo tiempo en recipientes de Al sin proteger alimentos de alta acidez o salinidad (EFSA, 2008a).

El Reglamento (UE) 2016/1416 de la Comisión, que modifica el Reglamento (UE) Nº 10/2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos (por ejemplo, papel de Al), establece un límite de migración del Al de 1 mg por kg de alimento (UE, 2016).

3.2.5 Grupos de población

Los grupos de población más vulnerables a los efectos tóxicos del Al son los fetos (el metal atraviesa la placenta), lactantes (el metal se transfiere en la leche materna), y población infantil en general, ya que su capacidad de absorción de este metal es mucho mayor que en la población adulta.

3.3 Estrategias de gestión de riesgos

Las conclusiones del informe la AESAN de 2009 (AESAN, 2009) fueron: 1) la escasez de datos sobre del contenido de Al en alimentos en nuestro país; 2) la necesidad de realizar controles específicos de los niveles de Al en ciertas fórmulas para lactantes; 3) llevar a cabo estudios de toxicidad sobre los aditivos alimentarios que contienen Al en la población adulta y 4) disponer de estimaciones de la exposición dietética al mismo en nuestro país, incluyéndose métodos que permitan identificar sus fuentes, intrínseco o adicionado (aditivos, consecuencia del procesado, migraciones a partir de envases de almacenamiento, etc.), dado el potencial neurotóxico de este metal.

Hasta el momento no se ha avanzado mucho en estos aspectos.

Dado que no se puede disminuir la presencia de Al en el medio natural, se pueden emplear alternativas a su uso en la fabricación de aditivos y materiales en contacto con alimentos. Así, en el caso del tratamiento de las aguas residuales se ha propuesto la utilización de coagulantes vegetales, al constituir las aguas tratadas una de las principales vías de ingestión de este elemento (Matías-Cervantes et al., 2018). El uso excesivo de Al asociado con los aditivos alimentarios debe controlarse de manera efectiva (Ding et al., 2021).

Por su parte, la EFSA identificó las siguientes incertidumbres y/o lagunas de información a la hora de evaluar la exposición alimentaria al Al (EFSA, 2008a):

- Falta de representatividad de la totalidad de Europa en los datos de ingesta de Al (datos de

Finlandia, Reino Unido, Francia y España).

- Grandes variaciones entre los diferentes países que aportan datos, y, dentro de un país, diferencias entre los tipos de encuestas.
- Necesidad de más datos en los diferentes grupos de población.
- No se pudo determinar los compuestos individuales de Al ni las fuentes específicas que contribuyen al contenido de Al de un alimento específico debido a que los estudios dietéticos y los métodos analíticos utilizados solo determinan el contenido total de Al en los alimentos.

Debido a que no se puede excluir el riesgo relacionado con la exposición dietética al Al para ciertos grupos de consumidores, se deben continuar los esfuerzos para reducir la contaminación y la exposición.

La guía técnica del Consejo de Europa publicada en 2013 incluye la siguiente recomendación general: "El almacenamiento de alimentos líquidos ácidos (por ejemplo, zumos de fruta), alcalinos (masas con sosa) o salados, en utensilios de Al sin recubrir, debe limitarse para minimizar la liberación" (EDQM, 2013).

4. Antimonio

4.1 Identificación y caracterización del peligro

El antimonio (Sb) es un metaloide que se encuentra a bajos niveles en el medio ambiente, predominantemente en su forma trivalente (trihidróxido de antimonio ($Sb(OH)_3$), procedente tanto de la erosión natural del suelo, como de fuentes antropogénicas (EPA, 1979) (Mok y Wai, 1990).

Su absorción por vía gastrointestinal es escasa (1-10 %) y dependiente de diversos factores como la forma química y la solubilidad del Sb ingerido, la edad y la dieta. Varios estudios han evaluado los factores que contribuyen a la carga corporal de Sb. Un estudio de mujeres noruegas que nunca estuvieron embarazadas encontró que el aumento de la edad (25 a 40 frente a 18 a 24 años), una dieta omnívora (en comparación con una dieta vegetariana) y el consumo de tabaco se asociaron con niveles más altos de Sb sérico (Fløtre et al., 2017). Se distribuye por todo el organismo, siendo en pulmones, tracto gastrointestinal, glóbulos rojos, hígado, riñones, huesos, bazo y tiroides donde se alcanzan los niveles más elevados (Kirkland et al., 2007). El Sb trivalente se excreta predominantemente en las heces, con cantidades más pequeñas en la orina, y el Sb pentavalente se excreta principalmente en la orina.

El trióxido de Sb es clastogénico *in vitro*, pero no mutagénico, en ensayos de mutación genética en bacterias y en células de mamíferos cultivadas (ATSDR, 2019), si bien no se expresa *in vivo* (Kuroda et al., 1991) (Gurnani et al., 1992). La *International Agency Research on Cancer* (IARC, 2015) ha determinado que el trióxido de Sb es posiblemente cancerígeno para los humanos (Grupo 2B) y el trisulfuro de Sb no es clasificable en cuanto a carcinogenicidad en humanos (Grupo 3). La EPA no ha evaluado la carcinogenicidad del Sb. El Programa Nacional de Toxicología de Estados Unidos (*National Toxicology Program*, US-NTP) estableció que el Sb_2O_3 es un carcinógeno humano según las pruebas de carcinogenicidad en organismos modelo y los resultados de investigaciones mecánicas (NTP, 2018). Aun así, los datos disponibles relacionados con la carcinogenicidad del Sb en humanos son insuficientes para evaluar la relación entre las personas expuestas al Sb_2O_3 y el riesgo de cáncer humano (Bolan et al., 2022).

Tras un estudio subcrónico de agua potable con tartrato de potasio y Sb, se propuso un NOAEL de 6,0 mg antimonio/kg p.c./día. Utilizando este NOAEL y un factor de incertidumbre de 1000 (100 para la variación intraespecies y entre especies, y 10 para el uso de un estudio subcrónico), se obtuvo una Ingesta Diaria Tolerable (IDT) de 0,006 mg antimonio/kg p.c./día (o 0,36 mg Sb/persona/día) (OMS, 2003a). En base a los datos anteriores y considerando diversas exposiciones, se aplica una restricción de 0,04 mg antimonio/kg de alimento. Hay que tener en cuenta que el límite de migración podría superarse a temperaturas muy altas. Esta restricción permitiría que el 10 % de la IDT se asigne a materiales en contacto con alimentos (ATSDR, 2019).

Hasta el momento, no se han fijados límites máximos en el ámbito estatal ni comunitario con respecto a la presencia de Sb en alimentos. Sí está establecida una concentración máxima admisible para el agua potable de 5 µg/l en la Unión Europea (BOE, 2003). Según el Reglamento (UE) Nº 10/2011 de la Comisión, los fabricantes tienen que asegurar que los envases de plástico no transfieran cantidades de Sb superiores al valor límite de migración específico de 40 µg/kg, incluso si la cocción del alimento se realiza cuando todavía está envasado (UE, 2011a). En Estados Unidos, mientras que el agua del grifo está regulada por la EPA con un nivel máximo de contaminante (*Maximum Contaminant Level*, MCL) para el agua potable de 6 µg/l (EPA, 2018), el agua embotellada se considera un producto alimenticio y, por lo tanto, cae dentro del alcance de la FDA (FDA, 2017) que no ha especificado un límite de migración para el Sb de los materiales de envasado de PET (tereftalato de polietileno).

Tras la exposición directa (inhalación o ingestión) o indirecta (a través de la cadena alimentaria), el Sb y los compuestos derivados del Sb reaccionan con los sulfhidrilos en el tejido humano, provocando hipoxia celular al inhibir la acción enzimática y alterar el equilibrio iónico celular. Todo ello conllevaría un mal funcionamiento metabólico y deterioro del sistema nervioso y órganos vitales (Yang et al., 2015). La ingestión excesiva de Sb por parte de los humanos puede provocar náuseas, diarrea, erupciones cutáneas y trastornos respiratorios (Hua et al., 2021) (Bolan et al., 2022).

Los principales efectos adversos se producen en el corazón (alteraciones en las lecturas de electrocardiograma), tracto gastrointestinal (náuseas, dolor abdominal, vómitos, diarrea, anorexia), sistema musculoesquelético (mialgia, artralgia), hígado (aumentos en alanina y aspartato aminotransferasas), páncreas (aumentos en los niveles de amilasa sérica) y sistema nervioso (dolor de cabeza, mareos) (Zaki et al., 1964) (Dancaster et al., 1966) (Sundar et al., 1998) (Thakur, 1998) (Palacios et al., 2001) (Andersen et al., 2005) (Lawn et al., 2006) (Neves et al., 2009).

Están disponibles los siguientes datos toxicológicos tras una exposición oral: aguda, nivel mínimo de riesgo (*Minimal Risk Levels*, MRL) 1 mg antimonio/kg p.c./día; NOAEL de 99 mg antimonio/kg p.c./día (NTP, 1992); subcrónica, MRL 0,0006 mg antimonio/kg p.c./día; NOAEL de 0,064 mg antimonio/kg p.c./día (Poon et al., 1998), no existiendo suficientes datos para la derivación de un MRL crónico (ATSDR, 2019).

Por otra parte, se han encontrado asociaciones entre los niveles de Sb en orina y el riesgo de diabetes (datos obtenidos de la encuesta 1999-2010 *National Health and Nutrition Examination Survey*, NHANES) (Menke et al., 2016), problemas del sueño y somnolencia diurna (datos obtenidos de la encuesta 2005-2008 NHANES) (Scinicariello y Buser, 2016), autismo y desórdenes del espectro autista (Saghazadeh y Rezaei, 2017).

A mediados de la década de 1990, se planteó la hipótesis de que el crecimiento microbiano en el colchón de la cuna podría generar estibinas a partir del trióxido de Sb en los retardantes de llama. También se planteó la hipótesis de que la estibina podría provocar el Síndrome de Muerte Súbita del Lactante (SMSL) (Richardson, 1994).

4.2 Evaluación de la exposición y riesgo

La población general puede estar expuesta al Sb a través de la ingestión de alimentos y agua potable, la inhalación de partículas del aire ambiental o la ingestión de tierra o polvo contaminados.

Los usos de Sb son numerosos. Shotyk et al. (2006) alertaron de la presencia de Sb en concentraciones significativas en aguas embotelladas, relacionándolas con el uso de Sb como catalizador en la producción de botellas de PET (Shotyk et al., 2006) (Shotyk y Krachler, 2007). Esto ocurre sobre todo cuando se dan condiciones de almacenamiento inadecuadas, incluidas la exposición a la luz solar y las altas temperaturas (Westerhoff et al., 2007) (Bach et al., 2013) (Fan et al., 2014), siendo la temperatura el factor más influyente en el aumento de la liberación de Sb (Greifenstein et al., 2013). Además, independientemente de la duración de la exposición a los rayos ultravioleta, la frecuencia de reutilización (hasta 27 veces) fue el factor principal que aumenta linealmente la lixiviación de Sb de las botellas de PET a todas las temperaturas probadas (Andra et al., 2012) (Filella, 2020).

Por su parte, Xu et al. (2021) estudiaron la lixiviación y biodisponibilidad *in vivo* de Sb en bebidas embotelladas en PET, especialmente cuando las bebidas se almacenan en malas condiciones, encontrando que las bebidas carbonatadas y ricas en proteínas exhibieron un mayor riesgo de exposición debido a la elevada lixiviación de Sb y la alta biodisponibilidad en comparación con otras categorías de bebidas. Las bebidas consideradas fueron gaseosas, zumos de frutas, té, bebidas deportivas, bebidas proteicas y bebidas de café. La ingesta diaria crónica (*Chronic Daily Intake*, CDI) de Sb a través de estas bebidas establecidas fue, por orden: zumo > refrescos (incluidas las bebidas carbonatadas, deportivas y proteicas) > té > café, con valores de 13,2, 9,30, 1,0 y 0,24 ng/kg p.c./día para niños de 2 a 18 años. Para adultos (≥19 años), la CDI total fue, por orden: té > refrescos > café > zumo con valores de 8,78, 4,63, 2,92 y 2,19 ng/kg p.c./día. Entre todas las bebidas, los zumos representaron la mayor contribución al consumo de Sb en niños (39,1 % del CDI total), mientras que el té representó la mayor contribución en el caso de los adultos (47,4 % del CDI total). Además de las bebidas, se ha demostrado que la ingesta de otros alimentos constituye una ruta significativa para la exposición humana a Sb (Chen et al., 2014) (Cao et al., 2016).

En el caso de los zumos, Hansen et al. (2010) apuntaron la posibilidad de que el Sb provenga de algún ingrediente contaminado o del equipo de producción y no solo del PET.

Se han publicado muchos estudios sobre la presencia de Sb y los factores que influyen en botellas de PET, aunque según Filella (2020) no se ha profundizado en su conocimiento debido a deficiencias en el diseño de los estudios, como son el escaso número de muestras, falta de tratamientos estadísticos, etc., que conducen a conclusiones poco sólidas y deben ser corregirse en el futuro.

Son escasos también estudios de dieta total. Uno de ellos realizado en Cataluña en 2015, concluyó que los grupos de población estudiados tenían ingestas diarias muy por debajo del nivel de seguridad toxicológico establecido por la OMS en 6 µg antimonio/kg p.c./día. Los alimentos que más

Sb aportaban fueron el pan, los cereales y las frutas (ACSA, 2015). Glorennec et al. (2016), encontraron que la dieta representaba más del 77 % de la exposición total al Sb en niños franceses de 3 a 6 años de edad. Por su parte, Pearson y Ashmore (2020), al caracterizar la peligrosidad del Sb, observaron que el grupo de los bebés estaban expuestos a valores que superaban los estimados como saludables.

4.3 Estrategias de gestión de riesgo

Se han realizado experimentos de gestión de riesgos a nivel de laboratorio respecto a la reducción de Sb en suelos contaminados, mediante la aplicación de determinados materiales que adsorban el metaloide, disminuyendo su biodisponibilidad en las plantas (Kumar et al., 2020) (Palansooriya et al., 2020) (Bolan et al., 2022) , así como el uso de comunidades microbianas que modifiquen la toxicidad y movilidad de los compuestos de Sb mediante procesos redox (He et al., 2019) (Jeyasundar et al., 2021).

Para reducir los riesgos asociados a la exposición a Sb a través de la dieta es necesario la realización de estudios orientados a determinar la cesión y biodisponibilidad del Sb en diferentes matrices alimentarias (Xu et al., 2021). Además, sería interesante llevar a cabo estudios de toxicidad crónica.

Respecto a la lixiviación de Sb a partir de botellas fabricadas con PET, se pueden dar distintas pautas para reducir este proceso como, por ejemplo, lavar las botellas nuevas antes del primer uso, ya que la contaminación por este metaloide deriva del proceso de producción (Cheng et al., 2010), no almacenar estas botellas de PET en condiciones de alta temperatura (por ejemplo, maleteros de automóviles) y la no reutilización de las botellas (Filella, 2020).

Se necesitan estudios de seguimiento para bebés y niños pequeños, especialmente porque existe la posibilidad de exposición a partir de la ropa y los artículos del hogar tratados con retardantes de llama que contienen Sb.

5. Cromo (VI)

5.1 Identificación y caracterización del peligro

El cromo (Cr) es un metal presente en la naturaleza, formando parte de la crocoíta como cromato de plomo, siendo el elemento aislado por primera vez en 1798. La forma más frecuentemente encontrada en la naturaleza es el Cr (III), mientras que la presencia natural del Cr (VI) es poco habitual ya que se forma fundamentalmente en procesos industriales (Klaassen, 2019). El Cr (VI) se ha identificado como la forma más tóxica de cromo al atravesar rápidamente las membranas celulares y reducirse a Cr (III) causando efectos tóxicos (Ahmed et al., 2013).

5.1.1 Toxicocinética

La exposición oral al Cr (VI) tiene lugar fundamentalmente a través del agua de bebida. No obstante, la exposición ambiental al compuesto también es relevante. Tras la exposición oral a Cr, su absorción en el hombre es baja (<10 % de la dosis ingerida). No obstante, en el caso del Cr (VI) la absorción es mayor (2-10 %) que en el compuesto trivalente (0,5-2 %) (ATSDR, 2012). En ambos casos, la absorción del Cr es mayor en estado de ayuno que con el estómago lleno (O'Flaherty, 1996). Concretamente, la administración conjunta de Cr (VI) con zumo de naranja se ha visto que reduce

la absorción oral (Kerger et al., 1996). Además, la absorción intestinal parece estar dificultada por el contacto con los jugos gástricos tanto en humanos como en ratas (De Flora et al., 1987).

El Cr (VI) atraviesa la membrana celular fácilmente a través de los transportadores de sulfatos y fosfatos (ATSDR, 2012). Una vez entra en la célula, el Cr (VI) es reducido a Cr (III) por el ácido ascórbico, glutatión o cisteína. Debido a este proceso, se generan radicales libres con formación de aductos de ADN que parecen ser los responsables de la toxicidad del Cr (VI) que se detallará más adelante (Reynolds et al., 2012) (Sun et al., 2015). Tras la ingestión, también existe metabolismo reductor de Cr (VI) a Cr (III) por la saliva y en mayor medida por los jugos gástricos (De Flora, 2000) (EFSA, 2014). Una vez el Cr (VI) se absorbe y pasa a la sangre, entra en el eritrocito donde puede quedar retenido. Los compuestos de Cr se distribuyen por todo el organismo con nivel altos en el hígado, bazo, riñones y médula ósea. En el caso de las partículas de Cr pueden quedar retenidas en los pulmones durante años (Klaassen, 2019).

La excreción de Cr se da mayoritariamente por orina. La vida media de eliminación del Cr (VI) es de 35-40 horas (Sedman et al., 2006). Se ha visto que la eliminación del Cr (VI) es más rápida en el caso de la absorción oral frente a otras vías de exposición, reflejando claramente el paso a Cr (III) antes de la absorción gastrointestinal (Coogan et al., 1991). No obstante, se ha estimado que la eliminación total de organismo del Cr (VI) es de 22 días (OMS, 2000).

5.1.2 Efectos tóxicos

Por exposición ambiental, el Cr (VI) es corrosivo y puede causar ulceración crónica y perforación del tabique nasal, así como ulceración en otras zonas de la piel, dermatitis alérgica por contacto y asma (Gibb et al., 2000a) (ATSDR, 2012). La ingestión accidental de altas dosis de Cr (VI) puede provocar fallo renal agudo caracterizado por proteinuria, hematuria y anuria, aunque el daño en el riñón por exposición crónica a niveles más bajos no está demostrado (ATSDR, 2012). Tras una exposición oral aguda a altas dosis de Cr (VI) se producen efectos respiratorios, hematológicos, hepáticos, renales y del tracto gastrointestinal, habiéndose observado que dosis entre 4-360 mg cromo (VI)/kg p.c. fueron letales (EFSA, 2014).

En estudios a dosis repetidas se han reportado diferentes NOAEL, siendo el NOAEL más bajo encontrado 0,21 mg cromo (VI)/kg p.c./día establecido en ratas expuestas durante 2 años a este metal, que desarrollaron efectos tóxicos a nivel hemático y hepático, además de infiltraciones celulares histiocíticas en los ganglios linfáticos mesentéricos y duodeno (NTP, 2008). Los órganos más afectados según estos estudios de dosis oral repetida de Cr (VI) son: sistema hemático, hígado, riñón y tracto gastrointestinal (Kumar y Rana, 1982) (Kumar et al., 1985) (Vyskocil et al., 1993) (Chopra et al., 1996) (Acharya et al., 2001) (NTP, 2007, 2008). Se ha observado igualmente alteración en la reproducción y el desarrollo de ratas y ratones a los que se administró el metal por vía oral, comprobándose que el Cr (VI) es capaz de atravesar la barrera placentaria y acumularse en el feto (EFSA, 2014).

Uno de los efectos más estudiados del Cr es la carcinogénesis. Se ha demostrado la relación entre la exposición ambiental y laboral al Cr (VI) y el cáncer de pulmón (Gibb et al., 2000b). De hecho, el Cr (VI) está clasificado en el Grupo 1 por IARC como carcinógeno en humanos, para el cáncer de pulmón e incluso de nariz y senos nasales basada en la evidencia de la exposición laboral (IARC,

1990), mientras que el Cr (III) está clasificado en el Grupo 3. Por otro lado, se ha sugerido la relación entre la ingestión de agua de bebida contaminada con Cr (VI) y la aparición de cáncer de estómago (Sedman et al., 2006) (Smith y Steinmaus, 2009), aunque no está totalmente confirmado dicho efecto en el hombre (IARC, 2012). Además, debido a estos limitados datos en el hombre, no se ha podido establecer una relación dosis-repuesta hasta el momento.

Los compuestos de Cr (VI) tienen efectos genotóxicos, mientras que los compuestos de Cr (III) son habitualmente no genotóxicos, probablemente debido a su baja capacidad de entrar en la célula (Klaassen, 2019). Se ha comprobado que el Cr (VI) entra rápidamente en la célula y allí se reduce a otras especies de cromo, principalmente a Cr (III), que parece ser el último responsable del daño al ADN. Durante este proceso de reducción se pueden generar diferentes lesiones como aductos de Cr-ADN, uniones proteínas-ADN, reacciones cruzadas intrahebra Cr-ADN y oxidación de las bases del ADN (O'Brien et al., 2003) (Macfie et al., 2010). Además, también se ha visto que el Cr (VI) es mutagénico tanto en modelos experimentales bacterianos como en mamíferos (O'Brien et al., 2003). Es importante destacar que los efectos genotóxicos observados *in vivo* son discordantes dependiendo de la vía de administración del Cr (VI), lo que indica que la capacidad reductora del tracto gastrointestinal es un factor determinante, ya que puede reducir significativamente la absorción del Cr (VI) cuando se administra vía oral (EFSA, 2014).

El Cr (VI) puede reaccionar igualmente con otros componentes celulares durante su proceso de reducción dentro de la célula. Se generan especies reactivas de oxígeno que inhiben la síntesis de proteínas y detiene la replicación del ADN. El Cr (VI) interrumpe la ruta de señalización del p53; altera el control del ciclo celular ATM/ATR; induce apoptosis e interfiere en la reparación del daño del ADN (Zhitkovich, 2005) (Salnikow y Zhitkovich, 2008). También puede reaccionar directamente activando las enzimas de señalización celular como la familia de las Src quinasas, estimulando la cascada de señales que conduce a la represión de la transcripción de importantes proteínas protectoras de las células (O'hara et al., 2003) (Nemec y Bachowsky, 2009) (Nemec et al., 2010).

5.2 Evaluación de la exposición y riesgo

A pesar de la conocida exposición laboral y ambiental al Cr, en el informe de la EFSA de 2014 en el que se analizaron datos de contenidos de cromo en alimentos y agua de bebida se ha estimado que la mayor contribución a la exposición global al Cr tiene lugar por la vía oral, a la que habría que sumar la inhalación de compuestos de Cr, como los presentes en el humo del tabaco (EFSA, 2014).

Hay que destacar que la presencia de Cr (VI) en el agua de bebida suele ser deberse a una contaminación antropogénica. De esta forma, el contenido natural de Cr en agua superficial es de 1-10 µg/l. Sin embargo, aunque el contenido habitual en agua de bebida es menor a 2 µg/l, en aguas muy contaminadas esta concentración puede aumentar hasta 120 µg/l (OMS, 2003b).

En el informe de la EFSA mencionado anteriormente se recogió el análisis de 88 muestras de agua en las que se determinó para el agua de grifo un límite inferior de 0,2 µg/l y un límite superior de 1,9 µg/l. En el caso del agua embotellada los valores oscilaron entre 0,3 µg/l y 3,4 µg/l (EFSA, 2014). El panel supuso que todo el Cr presente en el agua analizada procedía del Cr (VI) por dos motivos: la relación de Cr (VI)/total fue de 0,97, y, además, el agua destinada al consumo humano se trata

habitualmente con agentes oxidantes en su proceso de potabilización, lo que favorecería la presencia del Cr (VI) frente al Cr (III). Este informe concluye que existe preocupación por la ingesta media de Cr (VI) a través del agua potable para los lactantes. Los expertos establecieron como puntos de referencia para realizar la evaluación de los efectos no cancerígenos el nivel más bajo de BMDL10 (*Benchmark Dose Lower Confidence Limit*) para la hiperplasia epitelial difusa en ratones hembra y el nivel más bajo de BMDL05 para la toxicidad hemática en ratas macho en un estudio de toxicidad crónica de 2 años de duración. Los márgenes de exposición (*Margin of Exposure*, MOE) indican que no existe preocupación para los efectos no cáncer teniendo en cuenta la exposición actual al Cr (VI) a través del agua de bebida. Para los efectos cancerígenos se seleccionó como punto de referencia el nivel más bajo de BMDL10 para la combinación de adenomas y carcinomas en intestino delgado de ratón. De esta forma, los MOE calculados indicaron baja preocupación en relación con la exposición a Cr (VI) a través del agua de bebida para todos los grupos de edad excepto para los lactantes (0-1 años). En este sentido, se ha considerado que las exposiciones más elevadas al Cr (VI) a través de cualquier tipo de agua de bebida se dan en las poblaciones más jóvenes (0-3 años), por lo que podría existir riesgo en niños de otros grupos de edad además de los lactantes. Por todo ello, el informe indica que para mejorar esta estimación sería necesario disponer de más datos del contenido de Cr en el agua. Por último, habría que tener en cuenta también otras formas de ingestión del Cr (VI) como el consumo de determinados alimentos que emplean agua para su preparación como el café, infusiones, sopas, leche en polvo o zumos de frutas deshidratados. En el peor escenario posible en el que no habría reducción del Cr (VI) al Cr (III), se estimó que la exposición al metal se podría duplicar con relación al consumo de agua de bebida exclusivamente (EFSA, 2014).

Hasta la fecha, no existe un nivel máximo legislado de contenido en alimentos para el Cr (VI). Aunque sí existe a nivel europeo un nivel paramétrico de 50 µg de Cr/l para el contenido de Cr total en agua destinada al consumo humano (UE, 1998) y un límite máximo de 50 µg/l para el contenido total de Cr en agua mineral natural (UE, 2003). Actualmente, este valor de presencia del Cr en agua está siendo evaluado por la OMS, por lo que recientemente se ha establecido un valor paramétrico de 25 µg/l para el que se da un plazo de cumplimiento hasta el año 2036 (UE, 2020).

Por otro lado, la presencia de Cr (III) en alimentos sí es habitual, y se ha establecido una IDT de 0,3 mg/kg p.c./día. En el caso del Cr (VI) no se ha podido establecer un nivel seguro de ingesta debido a su demostrada relación con el cáncer (EFSA, 2014). Aunque hay una gran carencia de datos de la presencia del Cr (VI) en alimentos, los expertos han indicado que la presencia del Cr (VI) en éstos podría contribuir sustancialmente a la exposición al mismo, por lo que debería considerarse.

5.3 Consideraciones futuras

Es importante poner de manifiesto la falta de datos de contenido de Cr (VI) tanto en alimentos como en agua de bebida. En el caso de los alimentos, parece ser que la absorción de este metal está favorecida en caso de ayuno, por lo que su presencia en alimentos dificulta su propia absorción. Hasta el momento, la mayor preocupación de exposición al Cr (VI) parece ser a través del agua de bebida, en particular en el grupo de edad de 0-1 años. No obstante, la escasez de datos impide realizar una correcta evaluación de riesgo, por lo que se deben realizar controles del contenido del Cr (VI) tanto en agua como en alimentos.

6. Antraquinonas

6.1 Identificación y caracterización del peligro

La antraquinona ($C_{14}H_8O_2$; 208,216 g/mol; CAS: 84-65-1; EC: 201-549-0, 9,10-antraquinona, ATQ) es un compuesto orgánico aromático con un anillo 9,10-dioxoantraceno (ECHA, 2022a) (Figura 1). La ATQ pertenece a una familia muy heterogénea de compuestos químicos denominados genéricamente antraquinonas, ya que su estructura polihidroxilada permite múltiples zonas y tipos de sustitución (-CH_3, -CH_2OH, -CHO, -COOH). De hecho, puede existir cierta confusión en la literatura científica, pero el término ATQ únicamente se refiere al isómero 9,10-antraquinona donde las posiciones 9 y 10 del anillo central de la molécula del antraceno han sido oxidadas a grupos carbonilo. Algunas de las antraquinonas más estudiadas son las derivadas del hidroxiantraceno, como son la aloe-emodina, crisofanol y reina entre otros, presentes en el ruibarbo y en la planta de aloe vera (IARC, 2018). Este documento se centra en la ATQ y no en sus derivados hidroxilados.

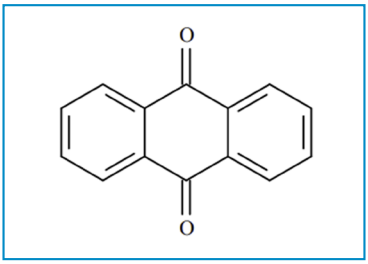

Figura 1. Estructura química de la antraquinona (9,10-dioxoantraceno, ATQ). **Fuente:** (ECHA, 2022a).

La ATQ presenta diferentes vías de formación. En la vía exógena, las antraquinonas se forman a partir de la oxidación de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) generados por la combustión incompleta del material orgánico. Genéricamente, se denominan antraquinonas a las formas oxidadas de los HAPs (oxi-HAPs). La ATQ es la quinona derivada del antraceno, y por ello también se la considera un contaminante ambiental. La toxicología de los HAPs ya está establecida y están legislados niveles máximos (2 µg/kg benzo[a]pireno, y 12 µg/kg para la suma de los cuatro principales HAPs) en alimentos (IARC 1987) (EFSA 2008b).

En la vía endógena, la ATQ puede generarse de manera natural por la actividad metabólica de diferentes organismos. Las antraquinonas son metabolitos secundarios presentes en la corteza y la raíz de muchas familias de plantas como son las *Polygonaceae*, *Rhamnaceae*, *Rubiaceae*, *Fabaceae*, *Xanthorrhoeaceae*, *Leguminosae* y *Liliacae*. Las antraquinonas mayoritariamente están presentes como glicósidos ya que esta estructura les confiere mayor solubilidad y reduce su reactividad química hacia otros compuestos orgánicos. Los principales azúcares implicados son la ramnosa y la glucosa, que suelen unirse en las posiciones C-6 y C-8. Las formas glicona son convertidas a la correspondiente aglicona por acción de las β-glicosidasas o a través de reacciones oxidativas. La ATQ se encuentra en el rizoma y raíz de determinadas plantas (por ejemplo, *Rheum palmatum* L. y *Rheum officinale* Baillon) en niveles del 2,2 al 6,0 % (EFSA, 2020a). La planta de aloe vera (*Aloe* spp.) contiene diferentes antraquinonas que están principalmente localizadas en la parte exterior

de la pulpa de la hoja (Rahman et al., 2017). La ATQ es eliminada de los productos de aloe vera antes de su uso comercial mediante diferentes métodos como son la maceración, el reflujo con aplicación de calor, la extracción asistida por microondas, entre otros (Zhao et al., 2011). Esta extracción también elimina otras antraquinonas sustituidas como la fisciona, crisofanol, aloe-emodina y reina. Las antraquinonas también son constituyentes naturales en hongos (*Aspergillus* sp., *Eurotium* sp., *Emericella* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Mycosphaerella* sp., *Microsporum* sp., etc.), bacterias (*Streptomyces* sp.), líquenes e insectos de la familia *Coccidos*.

Se han descrito algunas aplicaciones terapéuticas para determinadas antraquinonas naturales basadas en su actividad antioxidante, estrogénica, vasodilatadora, laxante y diurética, así como antiosteoporótica, antiinflamatoria, antidiabética, antiviral, neuroprotectora y antimicrobiana (Duval et al., 2016). Es por ello que las antraquinonas, y principalmente sus derivados hidroxilados, se pueden encontrar en una amplia variedad de suplementos dietéticos, preparados farmacológicos tradicionales chinos y medicamentos (Malik y Muller, 2016). Sin embargo, en las últimas décadas se han planteado problemas de toxicidad, que incluyen hepatotoxicidad (Wu et al., 2018), nefrotoxicidad (NTP, 2001), cardiotoxicidad (Malik y Muller, 2016), carcinogenicidad (Doi et al., 2005) y diarrea severa (Pelletier et al., 2000). Estos riesgos deben ser evaluados antes de utilizar suplementos que contienen antraquinonas como tratamientos terapéuticos crónicos (Guo y Mei, 2016).

Las antraquinonas tienen multitud de usos industriales. Una de las principales aplicaciones es como pigmento natural muy utilizado en la industria textil al ser una molécula muy estable al lavado y al calor (Yu, 2002) (IARC, 2018). También se usa como aditivo en el procesado alcalino de la pulpa de papel o como electrolito en baterías de flujo que proporcionan almacenamiento eléctrico a largo plazo. Específicamente, la ATQ se usa como acelerador para la separación de lignina y celulosa en la preparación de fibras de celulosa. La ATQ es un potente repelente de aves, por lo que es utilizada en la formulación de plaguicidas, insecticidas y fungicidas. Sin embargo, en la Unión Europea no está permitido su uso ni como plaguicida, ni en materiales de contacto con alimentos (UE, 2009).

6.1.1 Toxicocinética

Las posibles vías de exposición a la ATQ son oral, dérmica y por inhalación. En experimentos de administración oral con ^{14}C-ATQ en ratas, la ATQ en la forma aglicona se absorbe rápida y eficazmente (>99,8 %), siendo distribuida a todos los órganos y tejidos del organismo, aunque puede concentrarse parcialmente en el tejido adiposo (NTP, 2005). No se han descrito procesos de bioacumulación en ningún tejido en particular. Pasadas 96 horas tras la ingesta, el 95 % de la ATQ es metabolizada y eliminada a través de la bilis en las heces y en la orina. La vida media de ATQ en plasma es de 10-12 horas. Recientemente se ha evidenciado la posibilidad de transformación de los derivados hidroxilados de las antraquinonas entre sí, por ejemplo, entre la aloe-emodina y la reina (Wang et al., 2021). Las principales vías metabólicas de las antraquinonas son la hidrólisis, glucuronidación, y la sulfatación, y secundariamente la metilación y desmetilación, hidroxilación y deshidroxilación, oxidación/reducción (hidrogenación), acetilación y esterificación por la microbiota intestinal y las enzimas metabólicas hepáticas. En el hígado, la ATQ sufre hidroxilación en su anillo aromático por acción de las enzimas citocromo P450 (CYP1A2 y CYP2B1) y, posteriormente, tiene lugar la conjugación con el ácido glucurónico y el sulfato para ser excretada (Doi et al., 2005). Los metabolitos de la

ATQ son, principalmente, la 2-hidroxi-antraquinona (CAS 605-32-3) y secundariamente 1-hidroxi-antraquinona, junto con otros conjugados minoritarios (IARC, 2018). La 2-hidroxi-antraquinona también es un metabolito natural que se encuentra en determinadas plantas como la *Rubia tinctorum, Primula hedyotidea* y *Galium odoratum.*

6.1.2 Mecanismo de acción

Aunque los efectos carcinogénicos de la ATQ aún no han sido totalmente elucidados, se considera que la toxicidad sería equivalente al compuesto del cual deriva, el antraceno (Shukla et al., 2017). La toxicidad se evaluó en ratas F344 hembra en condiciones de exposición dietética subcrónica (Dodd et al., 2013). Se observaron alteraciones microscópicas en el hígado (hipertrofia centrolobulillar leve), bazo (proliferación y pigmentación de células hematopoyéticas leves) y riñones (gotas hialinas mínimas). Se estableció un NOAEL de 31,3 mg antraquinona/kg p.c./día en base a la ausencia de histopatología hepática. La exposición oral crónica en ratones B6C3F constató el incremento de la incidencia de adenoma y carcinoma hepático (individuales o combinados), independientemente del sexo, en los grupos de exposición entre 265-235 mg atranquinona/kg p.c./día (NTP, 2005).

En 2013, la IARC clasificó la ATQ como posible carcinógeno (Grupo 2B) en humanos, siendo el hígado y los riñones los principales órganos diana (IARC, 2013). La IARC indicó que los resultados toxicológicos sobre la mutagénesis y genotoxicidad bacteriana recogidos en la literatura científica y disponibles hasta esa fecha eran contradictorios. El principal inconveniente encontrado en la evaluación del riesgo fue que algunos de los estudios no declaraban la pureza del compuesto de partida, donde el 9-nitroantraceno podía aparecer como excipiente en niveles del 0,09 %. Sin embargo, la 2-hidroxi-antraquinona ha mostrado una actividad mutagénica y genotóxica bacteriana relevante. En base a ello, IARC indica que hay suficiente evidencia experimental en animales para establecer la probable carcinogenicidad de la ATQ en humanos. Las evidencias directas sobre la carcinogenicidad en humanos son aun incompletas, y se limitan a trabajadores expuestos durante la fabricación de ATQ como colorante que también están expuestos simultáneamente a otros químicos.

6.1.3 Niveles máximos legislados

De acuerdo con la Decisión de la Comisión 2007/565/CE, el uso de la ATQ como biocida está prohibido en la Unión Europea desde el 22 de agosto de 2008 (UE, 2007). El Reglamento (UE) Nº 1146/2014 de la Comisión relativo a los Límites Máximos de Residuos (LMR) establece el valor por defecto de 0,01 mg/kg para cítricos, frutas con pepitas, frutas con hueso y otras frutas, hortalizas frescas y congeladas, plantas aromáticas, leguminosas frescas, setas y cereales, y de 0,02 mg/kg para frutos con cáscara, semillas y frutos oleaginosos, té e infusiones (UE, 2014). En 2012, la EFSA indica que la información toxicológica es insuficiente para establecer un límite máximo que pueda proveer de una protección suficiente al consumidor, por lo que recomienda mantener el valor establecido de 0,01 mg/kg. El Reglamento (UE) Nº 1146/2014 considera que determinados alimentos de cultivo orgánico, podrían presentar niveles superiores a 0,01 mg/kg de ATQ (EFSA, 2012, 2019) (UE, 2014). Posteriormente, este Reglamento confirmó el LMR para la ATQ en el límite de detección de 0,01 mg/kg, aunque para determinados grupos de productos alimenticios (especias, hojas de té e infusiones herbales) el LMR se permite ampliarlo a 0,02 mg/kg por limitaciones analíticas (UE, 2014).

Se han descrito diferentes métodos cuantitativos para la determinación de ATQ en alimentos que están basados principalmente en cromatografía de líquidos con detección por espectrometría de masas (HPLC-MS/MS), fluorescencia o diodos, mediante cromatografía de gases-masas, y electroforesis capilar y cromatografía en fluidos supercríticos (Schneiderman et al., 1987) (De Santis y Moresi, 2007) (Shi et al., 2007) (Dongxiu et al., 2009) (Malik et al., 2010) (Stodůlková et al., 2010) (Supe, 2011) (Shi et al., 2014) (Aichner y Ganzera, 2015) (Duval et al., 2016) (Feng et al., 2017) (Kitano et al., 2018) (Huang et al., 2019). Se ha constatado la posible interferencia de la cafeína y la teobromina en la determinación de la ATQ en café y té (Diaz-Galiano et al., 2021).

6.2 Evaluación de la exposición y riesgo

La presencia de ATQ en los alimentos ha sido principalmente asociada a la contaminación ambiental, pero también se plantea que puede ser generada durante el procesado, aunque se desconocen los detalles del mecanismo y las variables que inciden sobre su presencia en los alimentos (DG-SANTE, 2017). En las posibles vías de contaminación ambiental, además del procedente de los gases de combustión, también hay que considerar la contaminación externa durante el cultivo y el procesado de los vegetales (por ejemplo, tés, hierbas, especias) por acción de bacterias o insectos que pueden bionsintetizarla, el agua de riego, así como el uso de fertilizantes formulados con ATQ. Por otra parte, se conoce que diferentes familias de plantas, como las *Polygonaceae*, *Rhamnaceae*, *Rubiaceae*, *Fabaceae*, *Liliacae*, *Anthorrhoeaceae* y *Leguminosae*, pueden producir ATQ de manera natural como un metabolito secundario (Shukla et al., 2017). Aun así, la evaluación del riesgo de la presencia de ATQ en alimentos ha sido tratada mayoritariamente como un contaminante ambiental. En este caso, la contaminación externa puede darse de manera no intencionada como:

- Contaminante ambiental derivado de la degradación térmica oxidativa de contaminantes orgánicos persistentes procedentes de la maquinaria agrícola.
- Residuo en alimentos provenientes de países extracomunitarios por el uso de repelentes de aves, plaguicidas y biocidas no permitidos en la Unión Europea.
- Migración al alimento desde el material de embalaje al ser un residuo en la producción de papel y cartón. Se han determinado niveles de 196,1 ng en la corteza de la pizza indicando una migración del 3,96 % de ATQ desde el envase de cartón (Louch, 2008). El BfR (2013) estimó que la migración desde un embalaje de cartón de pizza sería de 0,04 mg antraquinona/kg pizza, excediendo el límite máximo permitido.
- Como potenciador del color en tés (De Liberto y Werner, 2016) (IARC, 2018) (Wang et al., 2018).

En 2012 se detectó por primera vez la presencia de ATQ en un nivel superior al límite legal en alimentos (tés e infusiones herbales) provenientes de terceros países (no pertenecientes a la Unión Europea). El informe de la EFSA sobre residuos de plaguicidas en la Unión Europea indica que la ATQ fue detectada en 6 de 124 alimentos procedentes de la Unión Europea, y en 14 de 102 alimentos no procedentes de la Unión Europea (EFSA, 2019). Por otra parte, en el periodo desde marzo de 2018 a marzo de 2022 (5 años), se han notificado 20 alertas en el RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*) en varios países de la Unión Europea (España, Alemania, Finlandia, Polonia, Países Bajos y

Bélgica) relativas a la presencia de ATQ en alimentos, siendo 3 en 2020, 10 en 2021 y 7 en 2022 las que han motivado la retención del producto en frontera. Los alimentos implicados son, mayoritariamente, yerba mate procedente de Argentina y tés procedentes de China, y en menor medida especias (cardamomo, pimentón) procedentes de la India y Vietnam, y alimentos elaborados en países de la Unión Europea como té de mate de Países Bajos. La concentración de ATQ en estas notificaciones osciló entre 15 y 360 µg/kg (RASFF, 2022).

La formación de ATQ durante el procesado de diferentes alimentos ha sido objeto de estudio desde que fue detectada por primera vez en té negro. Anggraini et al. (2020) evaluaron la presencia de ATQ en cada etapa del proceso de fabricación de té verde y negro. Para el té verde, la ATQ estuvo presente en la hoja sin tratar y aumentó la concentración hasta el inicio de la etapa de secado. En el caso del té negro, el contenido en ATQ aumentó significativamente en la primera etapa de secado, mientras que la concentración disminuyó en la etapa final. Los investigadores sugieren que la presencia de ATQ es debida principalmente al humo emitido por el fuego de leña utilizado para impulsar la maquinaria de procesado, y en menor medida por la formación endógena como consecuencia de la temperatura aplicada durante el secado. Resultados similares fueros encontrados por Wang et al. (2018) donde los niveles iniciales de ATQ disminuyeron entre un 63,0 y 82,9 % durante el procesado del té negro. Los autores sugieren que la presencia de ATQ en las hojas de té proviene mayoritariamente de la deposición externa por la contaminación ambiental. La presencia de ATQ en la bebida de té está relacionada con los niveles en la hoja y presenta una baja solubilidad (1,35 mg/l a 25 ºC), donde solo entre el 1,6-13,7 % de la ATQ pasaría a la infusión de té.

Zastrow et al. (2019) estudiaron el contenido de ATQ junto con el de varios HAPs (antraceno y la suma del contenido de cuatro HAPs) en salchichas estilo Frankfurt ahumadas. El contenido más bajo de ATQ (<LOQ, *Limit Of Quantification*; LOQ= 1 µg/kg) se obtuvo cuando se utilizó humo generado por fricción, y el nivel más alto (3,2 µg/kg) en condiciones de alta densidad de humo y en tiempo de ahumado prolongado. Sin embargo, no se pudo establecer una correlación directa entre el contenido de ATQ y de HAPs en el alimento. Los investigadores resaltan la mayor volatilidad de la ATQ y el antraceno con respecto al resto de HAPs que les hacen más sensibles a variaciones en la temperatura y la ventilación empleados el ahumado.

Liang et al. (2021) investigaron los mecanismos moleculares involucrados en la acumulación de ingredientes medicinalmente activos, como las antraquinonas, durante el procesamiento postcosecha del ruibarbo. Los niveles de antraquinonas en el ruibarbo están relacionados a la respuesta a episodios de estrés en la planta, y evidenciaron que un proceso fisiológico similar ocurría durante el secado que explicaría los mayores niveles de antraquinonas en el ruibarbo ahumado frente al secado a la sombra. El secado con humo generó un ambiente de fuerte estrés abiótico (alta temperatura y alta concentración de CO_2) que fue más propicio para la acumulación de ATQ a través de la activación de las rutas metabólicas de biosíntesis.

Un estudio pionero aborda la ruta química de formación de la ATQ en alimentos como consecuencia del procesado (Zamora e Hidalgo, 2021). La ATQ puede generarse a partir de reacciones de cicloadición entre la hidroquinona y 2-alquenal. En el caso concreto del té, la presencia de

ATQ en valores superiores al límite máximo se justificaría por la reacción entre la hidroquinona y el aldehído insaturado crotonoaldehído (C_4H_6O) durante el proceso de secado de hojas de té (60 ºC/72 horas). Esta investigación concluye que la presencia de ATQ en alimentos debe considerarse también como un contaminante de proceso al generarse de manera natural durante el tratamiento térmico, además de ser un residuo de la contaminación ambiental.

6.3 Recomendaciones

La ATQ puede estar presente en los alimentos tanto por contaminación ambiental, al generarse o incorporarse durante el procesado, o por migración desde el envase (por ejemplo papel y cartón). Aunque los efectos carcinogénicos de la ATQ en humanos aún no están completamente elucidados, se considera que la toxicidad sería equivalente al antraceno. Los efectos adversos se refuerzan debido a que el principal metabolito, la 2-hidroxiantraquinona, es un carcinógeno. La IARC indica que hay suficiente evidencia experimental en animales para establecer la probable carcinogenicidad de la ATQ en humanos (Grupo 2B). Si bien no es esperable la presencia de ATQ como plaguicida, en los últimos años se han identificado otras vías posibles de contaminación que pueden incrementar el riesgo para el consumidor.

Se recomienda incorporar el análisis de ATQ en los estudios colaborativos de agentes químicos sobre alimentos desecados y/o ahumados en general, y particularmente en aquellos que provienen de extractos de plantas (por ejemplo, tés, extractos herbales para infusión). La determinación de ATQ podría ser extendida a otras formas oxidadas de HAPs ya que la evaluación de la presencia de ATQ no debe considerarse de manera aislada. En línea con lo expresado por la DG-SANTE, la presencia de ATQ debe evaluarse conjuntamente con la presencia de los residuos de HAPs más frecuentes (DG-SANTE, 2017). De esta manera, el análisis simultáneo de ATQ con los HAPs ayudará a discernir si el origen de la presencia de ATQ está relacionado con un uso ilegal como plaguicida.

7. Aflatoxinas en avellanas

7.1 Identificación y caracterización del peligro

En 2020 se publicó un nuevo informe de la EFSA sobre "*Risk assessment of aflatoxins in food*". La información relativa a la identificación y caracterización del peligro se revisa ampliamente en dicho informe (EFSA, 2020b).

Brevemente, las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 (AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2) son micotoxinas producidas principalmente por cepas toxigénicas de los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. La aflatoxina que se encuentra con mayor frecuencia en muestras de alimentos contaminados es la AFB1 y las otras tres generalmente no se encuentran en ausencia de AFB1.

En estudios a corto plazo (7 a 90 días), la AFB1 muestra múltiples efectos negativos en roedores, incluida la inhibición del crecimiento normal, daño hepático y renal, así como alteraciones sostenidas en la microbiota intestinal. La AFB1 es una sustancia genotóxica y cancerígena. Hay evidencia de efectos genotóxicos en ratones gestantes, fetos y animales jóvenes. A diferencia de la AFB1, hay menos estudios disponibles sobre la genotoxicidad de las otras aflatoxinas. Los estudios epidemiológicos informados desde 2006 refuerzan la evidencia de que la exposición a las aflatoxinas

está asociada con un riesgo de desarrollar carcinoma hepatocelular, con un mayor riesgo para las personas infectadas con los virus de la hepatitis B (VHB) y C (VHC).

El Panel CONTAM (*Contaminants in the Food Chain*) de la EFSA consideró que la carcinogenicidad hepática de las aflatoxinas sigue siendo el efecto fundamental para la evaluación del riesgo. En vista de las propiedades genotóxicas, el Panel CONTAM consideró que no era adecuado establecer una IDT, y en su lugar seleccionó un BMDL10 de 0,4 µg/kg p.c./día para la incidencia de carcinoma hepatocelular en ratas macho después de la exposición a AFB1 para ser usado en un enfoque de margen de exposición (MOE).

7.2 Evaluación de la exposición y riesgo

En 2007, la EFSA emitió un informe en el que se evaluaba el riesgo en que se incurría aplicando un incremento del límite máximo de aflatoxinas vigente en aquel momento (2 µg aflatoxina B1/kg y 4 µg aflatoxinas totales/kg). Se partió de datos de contaminación aportados por los estados miembros que mostraron para la AFB1 una mediana, media, percentil 95 y máximo de 0-0,16, 0,85-0,95, 3,00 y 200 µg/kg, respectivamente, y, para las aflatoxinas totales, de 0-0,30, 1,50-1,70, 6,20 y 200 µg/kg, respectivamente. El porcentaje de muestras por debajo del límite de detección (*Limit of Detection*, LOD) fue del 70,3 %, el de muestras por encima de 8 µg/kg de AFB1 del 1,7 % y las muestras por encima de 10 µg/kg de aflatoxinas totales, del 2,9 %, lo cual demostraba el amplio rango de variabilidad (EFSA, 2007).

Para el caso específico de España se determinó teóricamente (basándose en los nuevos límites propuestos, 10 µg aflatoxinas totales/kg, en vigor a día de hoy) una exposición a aflatoxinas totales de 0,825-1,907 ng/kg p.c./día. La contribución del consumo de avellanas a dicha ingesta era <0,1 %, siendo el maíz y las semillas oleaginosas la principal vía de exposición. En dicho cálculo de la exposición se consideró que los valores de contaminación no excederían en ningún caso los límites legales. Se concluyó que la modificación del nivel máximo para aflatoxinas totales en vigor en aquel momento de 4 a 10 µg/kg permitiría incrementar en un 2,7 % los lotes conformes y resultaría en un incremento de los niveles medios de contaminación de aflatoxinas totales desde 0,31-0,53 hasta 0,57-0,78 µg/kg (EFSA, 2007).

Los MOE basados en la BMDL10 en animales indicaron una posible preocupación con respecto a la ingesta de aflatoxinas en todas las regiones de la Unión Europea. Sin embargo, los valores de BMDL10 y BMDL1 calculados en base a datos de estudios en humanos de poblaciones sensibles (solo hombres) que tienen una alta prevalencia de infección por VHB sugieren que los humanos pueden ser menos sensibles que los ratones utilizados para derivar el BMDL10 en animales (EFSA, 2007).

Sin embargo, recientemente, Ebrahimi et al. (2022) realizaron una revisión de los resultados de presencia de aflatoxinas en frutos secos publicados en los últimos años, y reportaron un nivel medio de 17,33 µg de aflatoxinas totales/kg y de 10,54 µg de aflatoxina B1/kg en avellanas. En Turquía, Keskin y Gürsoy (2019) investigaron la presencia de aflatoxinas en muestras de avellana, avellana tostada y crema de avellana, con incidencias de 30, 14 y 45 %, respectivamente, y niveles de contaminación de 2,11-10,03, 0,1-4,04 y 0,2-6,02 µg/kg, respectivamente. Además, Demirhan y Demirham (2022) encontraron el 50 % de muestras positivas, con medias entre 0,21 y 1,03 µg/kg en crema de avellana. Gallo et al. (2021) analizaron los resultados obtenidos en el periodo 2017-2020 por un la-

boratorio de control oficial situado en el sur de Italia, concluyendo que el 4,5 % de las muestras de lotes importados de países no pertenecientes a la Unión Europea sobrepasaban el límite máximo, de las cuales el 13,3 % correspondían a avellanas, siendo únicamente sobrepasadas por los pistachos (52 %). El 5,6 % de las muestras de avellana analizadas eran no conformes.

En los últimos años, la avellana y sus derivados han sido el cuarto producto que ha motivado mayor número de notificaciones en el RASFF relacionadas con aflatoxinas, tras cacahuetes, pistachos e higos secos. En general, el número de notificaciones anuales se sitúa entre 30 y 50. Desde 2016, año en que la mayoría de notificaciones se debían a avellanas importadas de Turquía, el porcentaje ha ido bajando habiendo únicamente 4 en 2021. En su lugar, se ha dado un aumento de las notificaciones debidas a nuevos países de origen, mayormente Azerbaiyán (a partir de 2017) y Georgia (a partir de 2019) (RASFF, 2022).

7.3 Estrategias de gestión de riesgos

Las estrategias convencionales para la prevención de la producción/contaminación de micotoxinas requieren enfoques previos y posteriores a la cosecha. En precosecha se ocupan del control de la contaminación fúngica en el campo, mientras que en poscosecha se enfocan al procesado y almacenamiento. Sin embargo, las estrategias tradicionales no parecen ser suficientes, la presencia de aflatoxinas es inevitable en determinadas condiciones ambientales y requiere un procesado adicional para la descontaminación.

Aparte de los sistemas de prevención basados en muestreo, análisis y discriminación de lotes contaminados, en los últimos años se ha asistido a una investigación intensa y se han patentado tecnologías de descontaminación física basadas en selección por color de alta velocidad, por técnicas espectroscópicas, y por métodos de análisis de imágenes hiperespectrales para eliminar las avellanas contaminadas de cada lote (Kalkan et al., 2011) (Wu et al., 2018).

En conclusión, la realidad actual parece demostrar la presencia de aflatoxinas de forma frecuente tanto en avellanas, como en pistachos y cacahuetes. La gestión de este riesgo recae en la actualidad en el muestreo y análisis de los lotes que entran en la Unión Europea, bien por la autoridad competente, bien por los comercializadores de materias primas, o bien por cada industria procesadora en particular. Sin embargo, se ha puesto de manifiesto las limitaciones de cualquier método de muestreo aplicado sobre grandes lotes, dada la heterogénea distribución de las aflatoxinas en los diferentes frutos que los componen. Así pues, se hace necesario el estudio prospectivo a nivel de alimentos a disposición del consumidor para evaluar el riesgo.

8. Melamina

8.1 Identificación y caracterización del peligro

La melamina (2,4,6-triamino-1,3,5-triazina, CAS 108-78-1, $C_3H_6N_6$) es un compuesto orgánico nitrogenado que se utiliza como aditivo en la síntesis de polímeros de melamina-formaldehído empleados para la fabricación de laminados, revestimientos, y polímeros moldeados como vajillas y utensilios de cocina (Figura 2). Además, la melamina se utiliza en la fabricación de materiales ignífugos, adhesivos, pinturas y fertilizantes. La melamina y sus derivados metilados se emplean en los recubrimientos de

latas de comida y envases por lo que la posible migración residual del monómero al alimento debe ser controlado. La melamina se utiliza en la elaboración de los adhesivos, el papel y el cartón resistente a la humedad. La migración inicial de melamina puede deberse al monómero residual en el polímero, mientras que la migración posterior puede resultar de la descomposición del polímero (Li et al., 2019). La melamina se produce a partir de la urea, el ácido ciánico y el amoniaco, generándose como productos intermediarios el ácido cianúrico, amelida y amelina. La melamina también es un producto de la degradación de la ciromazina que se usa como plaguicida (acaricida e insecticida) y antiparasitario (ectoparasicida), y tiene establecidos límites máximos en el Reglamento (UE) Nº 37/2010 (UE, 2010b).

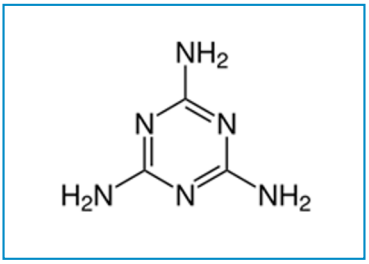

Figura 2. Estructura química de la melamina (CAS 108-78-1). **Fuente:** (ECHA, 2022b).

Debido a su alto contenido en nitrógeno, la melamina se usó fraudulentamente entre los años 50 y 60 como fuente de nitrógeno no proteico en la alimentación de rumiantes, pero las evidencias de insuficiencia renal severa limitaron su uso. En 2004, se detectaron en países del sur asiático problemas de daño renal en perros causados por la presencia de melamina en piensos para animales. En 2008, tuvo lugar la denominada crisis de la leche en polvo procedente de China contaminada con melanina. Este fraude alimentario causó cálculos renales y daño agudo en los riñones de lactantes y niños de corta edad. Los análisis de los cálculos renales indicaron que la mayoría de estos urolitos estaban compuestos de cianurato de melamina (MCA) que es el complejo entre la melamina y el ácido cianúrico (Weng et al., 2016). Dependiendo del proceso de purificación, la melamina puede contener subproductos de estructura relacionada, particularmente ácido cianúrico, amelida y amelina. Hay evidencias suficientes para constatar que la combinación de melamina y ácido cianúrico aumenta la nefrotoxicidad de ambos compuestos por separado (Li y Chow, 2017). La Comisión Europea estableció en la Decisión 2008/798/CE (UE, 2008) un límite máximo de 2,5 mg melamina/kg de alimento y se prohibieron los productos importados desde China que contuviesen leche o derivados lácteos.

La melamina presenta una alta tasa de absorción (>90 %) en el tracto gastrointestinal. La vida media del compuesto varía de 2,7 a 4,9 horas en ratas y de aproximadamente 4 horas en cerdos. El metabolismo de la melamina en ratas es muy limitado y se elimina mayoritariamente a través de la orina en su forma original. La toxicidad inherente de la molécula de melamina se considera muy baja y las principales consecuencias adversas para la salud se debe a su capacidad de formar cristales que son la principal causa de los daños renales. Los riñones son el principal órgano diana del daño a la exposición a melamina. La evaluación histológica de los riñones de perros que han

ingerido alimentos contaminados con melamina revela la presencia de urolitos y nefritis intersticial linfoblástica. En ratas, la melamina y el ácido cianúrico causan la degeneración del túbulo proximal y su necrosis, así como picnosis nuclear, vesículas mitocondriales e inflamación celular. Además del daño a las células del tubo proximal, se observó el bloqueo de los túbulos distales y presencia de cristales en la vejiga (Melnick et al., 1984) (Baynes et al., 2008) (Zhu et al., 2009) (Xie et al., 2010) (Chen et al., 2014) (Guan y Deng, 2016) (Li y Chow, 2017). Aunque los estudios toxicocinéticos en animales muestran que la mayoría de la melamina ingerida es excretada, se han detectado bajas concentraciones de melamina en los tejidos comestibles de animales, en la leche y en los huevos de animales de granja (Sun et al., 2011) (Yang et al., 2011) (Tkachenko et al., 2015). La tasa de transferencia en cualquiera de los casos anteriores es inferior al 3,2 % de la melamina ingerida. La melamina también puede afectar a otros órganos además del riñón, ya que se han descrito anomalías en la funcionalidad de los espermatozoides y efectos sobre la plasticidad sináptica del hipocampo y del comportamiento en ratas (Zhang et al., 2011) (Yan et al., 2012). Estudios farmacocinéticos en modelos animales establecieron una Dosis Letal (DL_{50}) de 3161 mg melamina/kg p.c. Se ha establecido un NOAEL de 63 mg melamina/kg p.c./día para la formación de cálculos urinarios basado en los ensayos en ratas y aplicando un factor 100 de incertidumbre (OMS, 2008).

En 2008, la nefrotoxicidad asociada a la melamina fue también descrita en niños de corta edad (6-18 meses) que consumieron leche infantil adulterada con melamina. La principal manifestación clínica fue la formación de urolitos, un incremento de la proteinuria, y nefritis crónica que conducen a un daño renal severo (Wen et al., 2010, 2016). Otras evidencias sugieren que más allá de sus efectos renales, la melamina puede también actuar como disruptor endocrino y neurotoxina (Tian et al., 2016) (Bolden et al., 2017).

En 2010, la EFSA aprobó un dictamen científico relacionado con la presencia de melamina en la alimentación humana y animal donde el principal riesgo a la exposición dietética a la melamina es la formación de cristales en las vías urinarias y daño renal. La melamina no está considerada como una sustancia mutagénica para los humanos, pero si como posible carcinogénica (Grupo 2B) debido a suficientes evidencias en animales de experimentación, ya que el aumento de los cálculos se asoció también con una mayor incidencia de carcinoma de células transicionales en la vejiga urinaria (IARC, 2019). Se estableció una Ingesta Diaria Tolerable (IDT) de 0,2 mg melamina/kg p.c./día, a partir de un BMDL10 de 0,74 mg melamina/kg p.c./día para un incremento en un 10 % de la incidencia de nefrolitiasis. Es muy importante resaltar que la co-exposición a la melamina y al ácido cianúrico en los todos los ensayos en animales de laboratorio mostró una mayor nefrotoxicidad, concretamente nefrolitiasis, en comparación con la melamina o el ácido cianúrico aisladamente. En base a esta evidencia, la EFSA recomienda la determinación simultánea de la presencia de melamina y sus análogos estructurales en alimentos y piensos. Sin embargo, no hay suficientes evidencias si la amelida y amelina pueden formar cristales con la melamina (EFSA, 2010).

La Comisión Europea estableció un Límite de Migración Específica (*Specific Migration Limit,* SML) de 0,5 mg/kg, asumiendo un consumo máximo de 1 kg de comida expuesta. Este SML sirvió como criterio para evaluar la idoneidad de las sustancias como material en contacto con alimentos. El Reglamento (UE) Nº 594/2012 por el que se modifica el Reglamento (CE) Nº 1881/2006, introduce

una nueva sección 7 en la que se fija el contenido máximo de melamina en los productos alimenticios (UE, 2012b). Los niveles máximos son de 1,0 mg/kg en preparados en polvo para lactantes y preparados de continuación en polvo, y de 2,5 mg/kg en cualquier otro producto alimenticio. En 2013, el Reglamento (UE) Nº 107/2013, modificaba el anexo I de la Directiva 2002/32/CE en lo relativo a los niveles máximos de melamina en los alimentos enlatados para animales de compañía ya que la migración en alimentos con alto contenido en humedad era mayor a la de los alimentos secos, fijándolo en 2,5 mg/kg en piensos sobre un contenido en humedad del 12 % (UE, 2013).

La melamina se determina mediante HPLC-MS/MS con un LOD de 0,09 ng/ml, siendo el método de referencia (EFSA, 2010). Entre las técnicas de cribado más eficientes en cuanto a niveles de sensibilidad se puede destacar la espectroscopía de fluorescencia, la espectroscopía de infrarrojo y técnicas ELISA, ya que no requiere pretratamiento de la muestra y el tiempo del análisis se encuentra entre 1 y 5 minutos (Rovina y Siddiquee, 2015).

8.2 Evaluación de la exposición y riesgo

Más allá de la exposición intencionada debida al fraude por adulteración, también puede ocurrir la exposición no intencionada debido a la migración de la melamina desde materiales en contacto con los alimentos que contienen plásticos de melanina-formaldehído, revestimientos de envases, papel, cartón y material adhesivo. La tasa de migración de melamina depende de la temperatura, acidez, tiempo de contacto y del tipo de simulante utilizado, así como como la calidad del producto. El riesgo se incrementa cuando el alimento tiene un pH ácido y cuando se calienta al microondas (EFSA, 2010).

La melamina es una sustancia autorizada en la fabricación de materiales plásticos termoestables en contacto con alimentos. El Reglamento (UE) Nº 284/2011 modifica los SML de melamina y formaldehído en los materiales plásticos en contacto con alimentos de origen chino, limitándolos de los 30 mg/kg anteriores a 15 mg/kg. El Reglamento establece condiciones específicas y procedimientos detallados para la importación de artículos plásticos de poliamida y melamina para la cocina originarios o procedentes de la República Popular China y de la Región Administrativa Especial de Hong-Kong (UE, 2011b, 2015).

En este contexto, las fuentes posibles de exposición a melamina son a través de: (i) vajilla elaborada con derivados de melamina, (ii) comida enlatada con recubrimiento interior del envase conteniendo melamina, (iii) adhesivos y otros embalajes de alimentos, y (iv) agua procedente de la fabricación industrial de estos productos químicos.

Un estudio reciente ha evaluado las vías de exposición dietética de melamina en la población de Estados Unidos a través de la asociación entre el consumo de alimentos según los hábitos dietéticos y la concentración de melamina en la orina de los sujetos (Melough et al., 2020). La investigación concluye que los hábitos dietéticos que incluyen el consumo de carnes procesadas, cereales integrales y posiblemente otros alimentos de origen vegetal pueden ser fuentes importantes de exposición a melamina en la población americana. Los investigadores plantean que el uso del plaguicida ciromazina puede provocar la contaminación con melamina de alimentos de origen vegetal, ya que este plaguicida se metaboliza en melamina a través de una reacción de desalquilación en plantas y animales. Sin embargo, una limitación importante de esta investigación es que no se con-

sideró la exposición derivada de la migración de materiales en contacto con los alimentos como son los envases y los utensilios de cocina.

La melamina también es un contaminante ambiental al estar presente en el aire, el polvo, el suelo, los lodos de aguas residuales y sedimentos. Dado que la melamina es estable a la degradación, no es metabolizada por los animales y es rápidamente excretada, es probable su presencia en alimentos de origen vegetal. Este hecho puede explicar por qué el consumo de arroz se asoció con la presencia de melamina en la orina de ciudadanos en diferentes regiones de China. La melamina se detectó en más del 85 % de las muestras de orina con una concentración media de 2,524 µg/g (Shi et al., 2020).

Se ha estimado una IDT de 8100 ng de melamina/kg p.c./día basada en formación de cálculos en la vejiga de roedores (Wu y Zhang, 2013), y de 3150 ng de melamina/kg p.c./día basada en lesiones renales derivada de una alimentación combinada de melamina: ácido cianúrico (63:50) en ratas (Choi et al., 2010). Dado que se ha demostrado que la melamina y el ácido cianúrico tienen un fuerte efecto sinérgico sobre la urolitiasis (Jacob et al., 2011), la IDT de 3150 ng melamina/kg p.c./día parece la mejor opción para limitar el riesgo asociado de exposición a la melamina. La EFSA estimó la exposición a melanina en la población adulta de media 7,97 µg melamina/kg p.c./día. En el peor escenario (>P95), la exposición no supera los 11 µg melamina/kg p.c./día, siendo muy inferior a la IDT de 0,2 mg melamina/kg p.c./día (EFSA, 2010). Las principales contribuyentes a la exposición son la leche, el agua, hortalizas y cereales, pero es debido al mayor consumo de estas categorías de alimentos que por la alta presencia de melamina en los mismos. Otros estudios han calculado la Ingesta Diaria Estimada (IDE) en función de la concentración de melamina en los alimentos, mientras que la información disponible sobre la exposición interna humana es muy limitada. Las IDE de melamina para lactantes estaban entre 1 y 2 órdenes de magnitud por debajo de la IDT (Zhu y Kannan, 2019). Sin embargo, la EFSA concluyó que la exposición teórica acumulada debido al uso de vajilla de plástico de melamina-formaldehído es más de 7 veces superior a la IDT en los 3 grupos de edad estudiados (lactantes, niños pequeños y adultos), aunque es aproximadamente 3 veces mayor en un niño de 1,5 años en comparación con la de un lactante de 6 meses y la de un adulto, que son similares (EFSA, 2010).

La Recomendación (UE) 2019/794 de la Comisión relativa a un plan coordinado de control para establecer la presencia de determinadas sustancias que migran desde los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos indica que las vajillas y utensilios de cocina de plástico, incluidos utensilios de cocina de plástico no convencionales y vajilla, como tazas de café reutilizables que usan aditivos en el plástico derivados de fuentes naturales como el bambú deben ser muestreados en relación a la presencia de melamina y formaldehído (UE, 2019).

Sin embargo, en los últimos años los estados miembros de la Unión Europea han constatado que cada vez se comercializa un número mayor de materiales y objetos en contacto con alimentos fabricados a partir de plástico y al que se le añade bambú u otras sustancias "naturales". Un ejemplo son los utensilios de cocina o de mesa, como platos, tazones y vasos de café reutilizables. En paralelo, el sistema RASFF ha notificado 141 alertas desde 2021 de presencia de melamina en materiales en contacto elaborados con fibras de bambú. Se ha encontrado que en determinados casos los niveles de migración de melamina y formaldehído superan los SML de 2,5 y 15 mg/kg respectivamente, establecidos en el

Reglamento (UE) Nº 10/2011 de la Comisión, llevando a la retirada del producto del mercado. La AESAN evaluó la presencia de melamina en bebidas envasadas donde los niveles fueron todos inferiores al LOQ (0,5 mg/kg), y por lo tanto inferiores al límite establecido en 2,5 mg/kg (Bustos et al., 2015).

8.3 Recomendaciones

El aumento del uso de plásticos termoestables elaborados parcialmente con polímeros de melamina-formaldehído de uso en vajillas, envases y utensilios puede incrementar el riesgo asociado a la presencia de melamina y de sus análogos estructurales. Ya que la coexposición a la melamina y al ácido cianúrico ha demostrado un mayor efecto nefrotóxico en comparación con la melamina aisladamente, se recomienda la evaluación conjunta de la melamina y sus análogos estructurales, principalmente el ácido cianúrico. La población infantil puede ser el grupo poblacional más vulnerable al presentar mayores tasas de exposición que la población adulta.

9. Análogos del bisfenol A (BPA)

9.1 Identificación y caracterización del peligro

Durante los últimos años, se ha regulado el uso de bisfenol A (BPA) en diferentes países dado su conocido efecto como disruptor endocrino. La Ley 7/2022 de residuos y suelos contaminados para una economía circular prohíbe la utilización de BPA en envases (BOE, 2022). Por lo tanto, este compuesto se está reemplazando gradualmente por otros compuestos bisfenólicos en aplicaciones industriales. Análogos estructurales del BPA como el bisfenol S (BPS), bisfenol P (BPP), bisfenol F (BPF), bisfenol B (BPB), bisfenol E (BPE) y bisfenol AF (BPAF) (Figura 3) están siendo usados como alternativas al BPA en la producción de las resinas que se utilizan en materiales en contacto con los alimentos. Sin embargo, estos compuestos presentan una actividad disruptora endocrina similar o incluso superior al BPA, demostrada en numerosos trabajos experimentales (Andújar et al., 2019). Asimismo, se ha demostrado que los análogos del BPA presentan citotoxicidad, genotoxicidad, toxicidad reproductiva y neurotoxicidad en estudios de laboratorio (Chen et al., 2016).

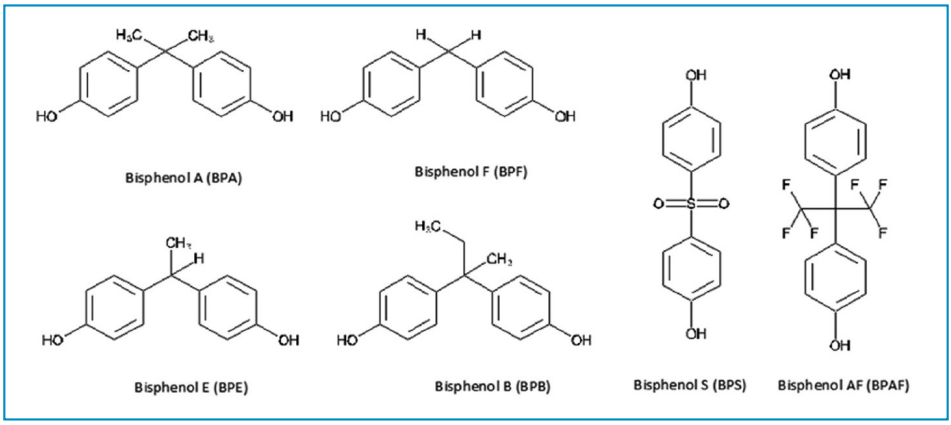

Figura 3. Estructura química de los análogos del bisfenol A. **Fuente:** (Andújar et al., 2019).

En general, los estudios sobre la aparición de análogos de bisfenol en compartimentos ambientales, productos de consumo y productos alimenticios demuestran claramente que los análogos distintos del BPA están presentes en el medio ambiente y que los humanos están expuestos a través de múltiples rutas, siendo la alimentaria la más importante. Aunque el BPA es generalmente el bisfenol más dominante en diferentes matrices, algunos análogos se aproximan o superan al BPA en concentraciones en algunas muestras de alimentos, probablemente reflejando un cambio de BPA a otros sustitutos en materiales en contacto con los alimentos. Aunque el número de estudios está aumentando los conocimientos científicos actuales, son aparentemente insuficientes.

A nivel mundial se ha reforzado la regulación del BPA, mientras que la regulación de análogos ampliamente utilizados como el BPS y el BPF es insuficiente. El incremento del uso de BPS ha llamado la atención de la comunidad científica y de las agencias regulatorias como la *European Chemicals Agency* (ECHA), y ha sido incluido en la *EU's Community Rolling Action Plan* (CoRAP) desde 2014 como sustancia sospechosa de tener actividad disruptora endocrina. El BPS está actualmente autorizado en virtud del Reglamento (UE) Nº 10/2011 para su uso como monómero en materiales plásticos en contacto con alimentos con un SML de 0,05 mg/kg de alimento (UE, 2011a). La Comisión Europea solicitó a la EFSA que evaluara el impacto en la autorización actual de BPS en materiales en contacto con los alimentos de plástico de los estudios recientes presentados por los solicitantes de registro de BPS en respuesta a la Decisión de la ECHA sobre la evaluación de sustancias bajo el Reglamento (CE) Nº 1907/2006 (UE, 2006). Estos estudios incluyeron un estudio ampliado de toxicidad reproductiva de una generación (*Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study*, EOGRTS), con cohortes de neurotoxicidad del desarrollo (*Developmental Neurotoxicity study,* DNT) e inmunotoxicidad (*Developmental Immunotoxicity study*, DIT) (directrices de prueba de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos, OCDE, TG 443), y un estudio toxicocinético (*Toxicokinetic study*, TK) (OCDE TG 417) en ratas. El NOAEL más bajo del EOGRTS se identificó para la neurotoxicidad del desarrollo y la inmunotoxicidad del desarrollo en la dosis más baja de BPS probada de 20 mg/kg p.c./día. La dosis media de 60 mg bisfenol S/kg p.c./día fue el NOAEL para la toxicidad sistémica general, mientras que la neurotoxicidad del desarrollo, la fertilidad y el rendimiento reproductivo no se vieron afectados incluso con la dosis alta probada de 180 mg bisfenol S/kg p.c./día. La EFSA recomienda la recopilación de datos sobre el uso de BPS en plástico presente en materiales en contacto con alimentos y sobre su aparición y migración a los alimentos en el contexto de su posible uso como alternativa al BPA (EFSA, 2020c).

Respecto al BPF, este se ha considerado como "sustancia que requiere regulación" por la Secretaría Internacional de Sustancias Químicas (*International Chemical Secretariat*, ChemSec). En un estudio reciente, Lee et al. (2022) realizó un estudio de toxicidad a largo plazo (prueba de toxicidad de administración repetida de 90 días), genotoxicidad y estudios farmacocinéticos sobre BPF en ratas. Los autores determinaron un NOAEL de 2 mg bisfenol F/kg p.c./día para animales macho y 5 mg bisfenol F/kg p.c./día para hembras, y un NOEL (*No Observed Effect Level*) de 2 mg bisfenol F/kg p.c./día para ratas macho y 1 mg bisfenol F/kg p.c./día para hembras, siendo el órgano diana el intestino delgado.

9.2 Evaluación de la exposición y riesgo

Dado que la principal vía de exposición a los bisfenoles es la alimentaria, la EFSA ha reevaluado el riesgo de la presencia de BPA en los alimentos (EFSA, 2021). En su borrador de reevaluación del BPA, el panel de expertos ha establecido una nueva IDT de 0,04 ng bisfenol A/kg p.c./día. Al comparar la nueva IDT con estimaciones de la exposición de los consumidores al BPA a través de su dieta, la EFSA concluye que aquellos con exposición media y alta al BPA en todos los grupos de edad superan la nueva IDT, lo que indica potenciales problemas de salud. Sin embargo, a pesar de su demostrada presencia en los alimentos y su uso creciente, no se ha realizado una evaluación de la exposición alimentaria a los análogos del BPA por los organismos oficiales. Existen diferentes trabajos que demuestran la presencia de estos disruptores endocrinos en alimentos de consumo frecuente en diferentes países, principalmente BPS y BPF.

En Estados Unidos se encontró que BPF era el análogo del BPA más abundante presente en varios alimentos, incluidas bebidas, lácteos, grasas y aceites, pescados y mariscos, carnes, cereales, frutas y verduras (Liao y Kannan, 2013). La media de las concentraciones de BPA y BPF en los alimentos de Estados Unidos fueron de 3 y 0,93 ng/g de peso húmedo, respectivamente. Se encontró que los alimentos enlatados contenían concentraciones más altas de bisfenoles individuales y totales que los alimentos vendidos en vidrio, papel, o recipientes de plástico.

Liao y Kannan (2014), en un estudio realizado en China, determinaron la presencia de 8 bisfenoles en 13 categorías de alimentos. Los bisfenoles encontrados con mayor frecuencia fueron BPA y BPF, que se detectaron en concentraciones de valor medio de 4,94 ng/g y 2,50 ng/g de peso fresco, respectivamente. La concentración general más alta (suma de 8 bisfenoles) se encontró en productos enlatados (27,0 ng/g), seguidos de pescados y mariscos (16,5 ng/g) y bebidas (15,6 ng/g). Por el contrario, la concentración general más baja se encontró en la leche y los productos lácteos, los aceites de cocina y los huevos (2-3 ng/g). Se detectaron niveles de concentración total más altos en alimentos enlatados (56,9 ng/g) que en alimentos en envases de vidrio (0,43 ng/g), papel (11,9 ng/g) o plástico (6,40 ng/g).

Otros estudios han mostrado la presencia de análogos de BPA en verduras, frutas y refrescos enlatados (Gallart-Ayala et al., 2011), así como en miel (Cesen et al., 2016), pescado (Sadeghi et al., 2016) y mostaza (Zoller et al., 2016). Se ha encontrado BPF en mostaza de semillas de mostaza blanca en niveles de mg/kg, siendo un producto de reacción natural que se forma durante su preparación. La mostaza es uno de los condimentos más utilizados en todo el mundo y, según algunos autores, es la principal fuente de BPF en humanos, en Europa y probablemente en todo el mundo (Zoller et al., 2016). Además, BPF y BPS se han detectado en productos lácteos, carne, vegetales y cereales (Liao y Kannan, 2013).

En estudios que analizan alimentos en diferentes países europeos, el BPA sigue siendo el bisfenol detectado con mayor frecuencia en los alimentos analizados. Otros bisfenoles detectados con frecuencia en Europa fueron BPF, BPS y BPB (Gallart-Ayala, 2011) (Cacho et al., 2012) (Grumetto et al., 2013) (Alabi et al., 2014) (Regueiro y Wenzl, 2015) (Gallo et al., 2017) (Cirillo et al., 2019) (González et al., 2020). En un estudio reciente que analiza la presencia de BPA y análogos en alimentos consumidos frecuentemente por la población infantil española (Gálvez-Ontiveros et al., 2021), un

total de 52 % de las muestras mostraron concentraciones detectables de bisfenoles. BPA fue el bisfenol detectado con mayor frecuencia en alimentos ultraprocesados (media= 43,28 ng/g). BPS fue el segundo bisfenol detectado con mayor frecuencia en las muestras de alimentos (26,5 %). Se encontró BPE en el 4,1 % de las muestras de alimentos. Sin embargo, BPF, BPAF, BPB y BPP no fueron encontrados en ninguna de las muestras analizadas. El valor más alto de bisfenol se encontró en alimentos procesados, en muestras de atún enlatado, con un valor medio de 409 ng/g de BPA y 187,8 ng/g de BPS. Una preocupación especial es que los alimentos enlatados de atún es uno de los productos pesqueros más consumidos (Russo et al., 2019). Además, la bioaccesibilidad del bisfenol es mayor en conservas de pescado y marisco que en otras matrices alimentarias con valores que oscilan entre 80 y 99 % (Cunha et al., 2017). Estos resultados son consistentes con otros estudios que muestran concentraciones más altas de bisfenoles individuales y totales en alimentos enlatados que en alimentos vendidos en vidrio, papel o envases de plástico (Liao y Kannan, 2013).

9.3 Evaluación de la exposición

Los grupos de población más vulnerables a los efectos tóxicos de los análogos del BPA son las embarazadas y los niños en la vida posnatal temprana (bebés y niños pequeños). Esto no es sorprendente, dado que es durante estos períodos (especialmente embarazo temprano) que se forman todos los órganos (cerebro, hígado, músculos, esqueleto) y que ciertos mecanismos de regulación endocrina no están maduros. Varias líneas de evidencia muestran que muchas enfermedades infantiles y adultas, incluidas las enfermedades cardiovasculares, obesidad y trastornos metabólicos que incluyen diabetes tipo 2, ciertos cánceres reproductivos y enfermedades del neurodesarrollo pueden ser consecuencia de la exposición a los disruptores endocrinos durante el embarazo. Aunque hay menos datos sobre la infancia, diversos estudios en modelos animales y epidemiológicos muestran que la exposición a estos compuestos puede producir mayores efectos adversos en esta etapa de la vida (Demeneix y Slama, 2019).

9.4 Estrategias de gestión de riesgo

Teniendo en cuenta el último informe de la EFSA sobre los efectos en salud del BPA y las restricciones a su uso que se están produciendo en diferentes países es necesario la búsqueda de alternativas seguras. El uso actual de análogos del BPA como el BPS y el BPF debe ser controlado ya que diferentes estudios *in vitro, in vivo* y en humanos muestran que tienen efecto disruptor endocrino similar al BPA. A nivel mundial se ha reforzado la regulación del BPA, mientras que la regulación de sus análogos es insuficiente.

Aunque el número de trabajos está aumentando, los conocimientos científicos actuales son aparentemente insuficientes para dilucidar las fuentes alimentarias de análogos de bisfenol a nivel nacional o mundial. Una evaluación integral de la exposición dietética a estos compuestos es necesaria, particularmente al BPS y BPF ya que su uso es elevado y ha sido demostrada su presencia en alimentos europeos. Se recomienda su análisis en alimentos en especial en latas de conserva y, en el caso del BPF, en mostaza, donde se ha visto que sus niveles son más elevados.

10. Esterigmatocistina

10.1 Identificación y caracterización del peligro

La esterigmatocistina (STE) se aisló por primera vez en 1954 de cultivos de *Aspergillus versicolor.* Hoy se sabe que es una micotoxina producida por varias especies de hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Botryotrichum*, *Humicola* y *Penicillium*, aunque los principales productores son los *A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. nidulans*, hongos contaminantes comunes de maíz, arroz y piensos (Wagacha y Muthomi, 2008) (Rank et al., 2011) (Gruber-Dorninger et al., 2017).

La STE comparte su vía biosintética con las aflatoxinas. En particular, la STE actúa como precursor biogénico de la aflatoxina B1 (AFB1) y la aflatoxina G1 (AFG1). En las especies de hongos aflatoxigénicas como *A. flavus* y *A. parasiticus*, en las que STE se convierte rápidamente en el precursor directo de AFB1 y AFG1, la STE rara vez se acumula. Sin embargo, los sustratos colonizados por *A. nidulans* y *A. versicolor* pueden contener altas cantidades de STE (Yabe y Nakajima, 2004).

En estudios *in vivo*, la STE es capaz de inducir efectos tóxicos en varias especies de animales, como ratones, ratas, monos, pollos, rumiantes y peces, variando el efecto según la especie, la vía y la frecuencia de administración. La DL_{50} obtenida después de la exposición a STE varió de 5 µg/huevo en embriones de pollo de 5 días de edad a 166 mg/kg p.c. en ratas expuestas oralmente a la micotoxina (Purchase y van der Watt, 1969). Varios estudios indican que el hígado y los riñones representan los principales órganos diana de la toxicidad aguda (Sreemannarayana et al., 1988). También se ha demostrado que la exposición a STE induce un deterioro relacionado con el estrés oxidativo en el hígado y los riñones de rata (Sivakumar et al., 2001) (Dubravka et al., 2019).

Liu et al. (2012) también observaron una alteración de la función inmunitaria normal tras la exposición a STE, proporcionando datos de cómo la inmunotoxicidad de STE contribuye a su carcinogénesis. También está relacionada con una respuesta inmunitaria reducida y un equilibrio alterado del sistema inmunitario adaptativo, así como con la inducción de estrés oxidativo, apoptosis, disfunción mitocondrial y activación de vías específicas.

En consecuencia, a la luz de los estudios en animales realizados hasta la fecha y de los casos de cáncer humano analizados, la STE ha sido clasificada como posiblemente cancerígena para los humanos (Grupo 2B) por la IARC (1987).

A pesar de la evidencia de su carcinogenicidad, solo hay datos limitados sobre la detección de STE en sangre u orina humana disponibles en la literatura. Algunos estudios epidemiológicos muestran posibles asociaciones entre la exposición a STE y el riesgo de desarrollo de cánceres cómo el cáncer gástrico, hepático y pulmón (Lou et al., 1995) (Huang et al., 2004). Asimismo, se usaron aductos de STE-ADN y STE como biomarcadores en muestras de sangre y orina, respectivamente, de pacientes con cáncer de hígado o estómago (Tian et al., 1995) (Cao et al., 2018).

La técnica HPLC-MS/MS permite la detección con alta sensibilidad de STE en alimentos, con un LOD en el rango de 0,05-0,15 µg/kg para cereales y nueces, y 0,005-0,01 µg/kg para cerveza (Versilovskis et al., 2007) (Versilovskis et al., 2009).

Los niveles máximos de STE no están regulados dentro de la Unión Europea. Antes de su ingreso en la Unión Europea, República Checa y Eslovaquia habían establecido límites de STE en 5 µg/kg para algunos cereales y leche (FAO, 2004) (Stroka et al., 2004).

Debido a la falta de programas oficiales de control de STE, no hay evaluaciones fiables de la exposición alimentaria humana y animal, ni se conocen niveles seguros en los alimentos (EFSA, 2013). JECFA está trabajando actualmente en una evaluación de seguridad de STE propuesta por el Comité del *Codex* sobre Contaminantes en los Alimentos (FAO/OMS, 2015).

10.1.1 Presencia en alimentos

Las concentraciones de STE en granos y productos a base de granos varían desde unos pocos µg/kg hasta más de mg/kg. Las concentraciones más altas de STE (en el rango de 3,8 a 4,3 mg/kg) fueron detectadas por Takahashi et al. (1984) en granos de arroz integral almacenados en un almacén durante 2 o 3 años después de la cosecha. Entre las micotoxinas estudiadas, la STE fue la micotoxina detectada con mayor frecuencia en 180 muestras de arroz italiano por Bertuzzi et al. (2019), con niveles detectados en el rango de 0,16 a 8,34 µg/kg, que varían según la variedad de arroz. En cereales y alimentos japoneses recolectados entre 2016 y 2018, Yoshinari et al. (2019) demostraron la presencia de STE en el 19,9 % de todas las muestras, con concentraciones principalmente entre 0,05 y 0,5 µg/kg. También se encontró que el café estaba contaminado por STE. García-Moraleja et al. (2015) demostraron la aparición de STE en diferentes bebidas de café con una incidencia del 16 % y concentraciones que oscilan entre 7,65 y 63,19 µg/kg. En los quesos, la contaminación ocurre particularmente en la superficie, tras el deterioro por hongos durante la maduración y el almacenamiento.

En cuanto a los piensos, se encontraron niveles de 0,68-2,25 µg esterigmatocistina/kg en 14 muestras de piensos (Biancardi y Dall'Asta, 2015). La contaminación por STE se detectó en el ensilaje y en el alimento de un molino comercial de maíz en Burkina Faso (Warth et al., 2012) (Panasiuk et al., 2019). Sin embargo, no hay datos suficientes para evaluar la tasa de transferencia de STE a la leche u otros productos animales, como la carne y los huevos, cuando los animales están expuestos a alimentos contaminados (EFSA, 2013b).

Por lo tanto, a la luz de todo esto y de acuerdo con la definición de "micotoxinas emergentes" como "micotoxinas, que no se determinan de forma rutinaria ni se regulan legislativamente; sin embargo, la evidencia de su incidencia está aumentando rápidamente", existe una conciencia cada vez mayor sobre la importancia de establecer una mejor evaluación de riesgos para esta micotoxina y puede ser correcto considerar STE como una micotoxina emergente que necesita más investigación para no subestimar el riesgo potencial asociado con su exposición.

10.2 Prevención de la contaminación de alimentos por STE

Los planes de actuación convencionales utilizan estrategias físicas, químicas y biológicas previos y posteriores a la cosecha para reducir el crecimiento de hongos micotoxigénicos y la biosíntesis de micotoxinas en productos alimenticios (Kabak et al., 2006).

Dado que el uso de conservantes naturales para controlar el crecimiento fúngico y la producción de micotoxinas es de interés colectivo, en los últimos años se ha realizado un número creciente de estudios para tratar de contrarrestar los efectos adversos asociados a la exposición a micotoxinas con sustancias naturales (Krishnaswamy et al., 2010) (Fernández-Blanco et al., 2016) (Hu et al., 2017).

Asimismo, los resultados revelaron que el tratamiento de muestras de queso inoculadas con hongos y 250 ppm de propóleo tuvo un efecto significativo en la disminución de la producción de STE y, concentraciones a 500 y 1000 ppm, tuvieron un efecto inhibidor significativo en el crecimiento de moho (Aly y Elewa, 2007). Los aceites esenciales de cebolla y ajo también demostraron una actividad antifúngica significativa sobre el crecimiento micelial de *A. versicolor* y una actividad antimicotoxígena sobre la producción de STE, tanto individualmente como en mezclas (Kocic-Tanackov et al., 2012).

Conclusiones del Comité Científico

La presente revisión contempla una serie de sustancias químicas que pueden suponer riesgos para la salud de la población y que se consideran emergentes al no existir evidencias concretas sobre su peligro ni una regulación específica sobre su contenido en alimentos. El objetivo de esta revisión es proporcionar un punto de partida para la posible realización de estudios prospectivos, haciendo hincapié en indicar los alimentos que pueden ser de especial importancia en relación a los peligros contemplados. De ahí que en este informe no se realice una exhaustiva evaluación del riesgo de estos compuestos. Sí se ha incluido información específica sobre la descripción de la identificación y caracterización de cada uno de los peligros revisados, la evaluación de la exposición, así como una serie de recomendaciones para la gestión del riesgo y consideraciones futuras sobre las posibilidades de control en la cadena alimentaria, que puede servir para mejorar el conocimiento de los mismos entre los consumidores y otros sectores involucrados.

Referencias

Acharya, S., Mehta, K., Krishnan, S. y Vaman, C. (2001). A subtoxic interactive toxicity study of ethanol and chromium in male Wistar rats. *Alcohol*, 23, pp: 99-108.

ACSA (2015). Agència Catalana de Seguretat Alimentària. Generalitat de Catalunya. Departament de Salut. Elements traça en els aliments. Estudi de dieta total a Catalunya. Disponible en: https://acsa.gencat.cat/web/.content/_Publicacions/Estudis_de_dieta_total/elements_traca/elements_traca_en_els_aliments.pdf [acceso: 17-06-22].

AESAN (2009). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación al posible riesgo del aluminio dietético. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 10, pp: 73-89.

AESAN (2018). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la prospección de peligros químicos de interés en seguridad alimentaria en España. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 28, pp: 69-125.

Ahmed, M.K., Kundu, G.K., Al-Mamun, M.H., Sarkar, S.K., Akter, M.S. y Khan, M.S. (2013). Chromium (VI) induced acute toxicity and genotoxicity in freshwater stinging catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 92, pp: 64-70.

Aichner, D. y Ganzera, M. (2015). Analysis of anthraquinones in rhubarb *(Rheum palmatum* and *Rheum officinale*) by supercritical fluid chromatography. *Talanta*, 144, pp: 1239-1244.

Alabi, A., Caballero-Casero, N. y Rubio, S. (2014). Quick and Simple Sample Treatment for Multiresidue Analysis of Bisphenols, Bisphenol Diglycidyl Ethers and their Derivatives in Canned Food Prior to Liquid Chromatography and Fluorescence Detection. *Journal Chromatography A*, 1336, pp: 23-33.

Aly, S.A. y Elewa, N.A. (2007). The effect of Egyptian honeybee propolis on the growth of *Aspergillus versicolor* and sterigmatocystin biosynthesis in Ras cheese. *Journal of Dairy Research*, 74, pp: 74-78.

Andersen, E.M., Cruz-Saldarriaga, M., Llanos-Cuentas, A., Luz-Cjuno, M., Echevarria, J., Miranda-Versategui, C., Colina, O. y Berman, J.D. (2005). Comparison of meglumine antimoniate and pentamidine for Peruvian cutaneous leishmaniasis. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, 72 (2), pp: 133-137.

Andra, S.S., Makris, K.C., Shine, J.P. y Lu, C.S. (2012). Co-leaching of brominated compounds and antimony from bottled water. *Environment International*, 38, pp: 45-53.

Andújar, N., Gálvez-Ontiveros, Y., Zafra-Gómez, A., Rodrigo, L., Álvarez-Cubero, M.J., Aguilera, M., Monteagudo, C. y Rivas, A.A. (2019). Bisphenol A Analogues in Food and Their Hormonal and Obesogenic Effects: A Review. *Nutrients*, 11 (9): 2136, pp: 1-18.

Anggraini, T., Neswati, R.F.N. y Syukri, D. (2020). Identification of 9, 10-anthraquinone contamination during black and green tea processing in Indonesia. *Food Chemistry*, 327: 127092.

ATSDR (2008). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for Aluminium. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Disponible en: http://medbox.iiab.me/modules/en-cdc/www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp.asp_id=191&tid=34 [acceso: 17-06-22].

ATSDR (2012). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Chromium. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Disponible en: https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp7.pdf [acceso 17-06-22].

ATSDR (2019). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Antimony and Compounds. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Disponible en: https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=332&tid=58 [acceso: 17-06-22].

Bach, C., Dauchy, X., Severin, I., Munoz, J.F., Etienne, S. y Chagnon, M.C. (2013). Effect of temperature on the release of intentionally and non-intentionally added substances from polyethylene terephthalate (PET) bottles into water: chemical analysis and potential toxicity. *Food Chemistry*, 139 (1-4), pp: 672-680.

Baynes, R.E., Smith, G., Mason, S.E., Barrett, E., Barlow, B.M. y Riviere, J.E. (2008). Pharmacokinetics of melamine in pigs following intravenous administration. *Food Chemical Toxicology*, 3, pp: 1196-1200.

Bertuzzi, T., Romani, M., Rastelli, S. y Giorni, P. (2019). Mycotoxins and related fungi in Italian paddy rice during the growing season and storage. *Toxins*, 11 (3), 151, pp: 1-12.

BfR (2013). Bundesinstitut für Risikobewertung. BfR removes anthraquinone from its list of recommendations for food packaging. BfR opinion No. 005/2013. Disponible en: https://www.bfr.bund.de/cm/349/bfr-removes-anthraquinone-from-its-list-of-recommandations-for-food-packaging.pdf [acceso: 11-06-22].

Biancardi, A. y Dall'Asta, C. (2015). Determination of sterigmatocystin in feed by LC-MS/MS. *Food Additives and Contaminants*: Part A, 32, pp: 2093-2100.

BOE (2003). Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. BOE Nº 45 de 21 de febrero de 2003, pp: 1-40.

BOE (2022). Ley 7/2022, de 8 de abril, de residuos y suelos contaminados para una economía circular. BOE Nº 85 de 9 de abril de 2022, pp: 1-137.

Bolan, N., Kumar, M., Singh, E., Kumar, A., Singh, L., Kumar, S., Keerthanan, S., Hoang, S.A., El-Naggar, A.E., Vithanage, M., Sarkar, B., Wijesekara, H., Diyabalanage, S., Sooriyakumar, P., Vinu, A., Wang, H., Kirkham, M.B., Shaheen, S.M., Rinklebe, J. y Siddique, K. (2022). Antimony contamination and its risk management in complex environmental settings: A review. *Environment International*, 158: 106908, pp: 1-20.

Bolden, A.L., Rochester, J.R. y Kwiatkowski, C.F. (2017). Melamine, beyond the kidney: A ubiquitous endocrine disruptor and neurotoxicant? *Toxicology Letters*, 280, pp: 181-189.

Bustos, J., Santillana, M.I., Lomo, M.L. y Ruiz, E. (2015). Estudios de prospección de bisfenol A y melamina en bebidas enlatadas.. *Revista del Comité Científico de la AECOSAN*, 22, pp: 151-164.

Cacho, J.I., Campillo, N., Vinas, P. y Hernandez-Cordoba, M. (2012). Stir Bar Sorptive Extraction Coupled to Gas Chromatography-Mass Spectrometry for the Determination of Bisphenols in Canned Beverages and Filling Liquids of Canned Vegetables. *Journal Chromatography A*, 1247, pp: 146-153.

Cao, S., Duan, X., Zhao, X., Chen, Y., Wang, B., Sun, C., Zheng, B. y Wei, F. (2016). Health risks of children's cumulative and aggregative exposure to metals and metalloids in a typical urban environment in China. *Chemosphere*, 147, pp: 404-411.

Cao, X., Li, X., Li, J., Niu, Y., Shi, L., Fang, Z., Zhang, T. y Ding, H. (2018). Quantitative determination of carcinogenic mycotoxins in human and animal biological matrices and animal-derived foods using multi-mycotoxin and analyte-specific high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric methods. *Journal Chromatography B*, 1073, pp: 191-200.

Cesen, M., Lambropoulou, D., Laimou-Geraniou, M., Kosjek, T., Blanznik, U., Heath, D. y Heath, E. (2016). Determination of Bisphenols and Related Compounds in Honey and Their Migration from Selected Food Contact Materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (46), pp: 8866-8875.

Chen, M.Y.Y., Chan, B.T.P., Lam, C.H., Chung, S.W.C., Ho, Y.Y. y Xiao, Y. (2014). Dietary exposures to eight metallic contaminants of the Hong Kong adult population from a total diet study. *Food Additives and Contaminants*: Part A, 31, pp: 1539-1549.

Chen, Y.T., Jiann, B.P., Wu, C.H., Wu, J.H., Chang, S.C., Chien, M.S., Hsuan, S.L., Lin, Y.L., Chen, T.H. y Tsai, F.J. (2014). Kidney stone distribution caused by melamine and cyanuric acid in rats. *Clinica Chimica Acta*, 430, pp: 96-103.

Chen, D., Kannan, K., Tan, H., Zheng, Z., Feng, Y.L., Wu, Y. y Widelka, M. (2016). Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity-A Review. *Environmental Science Technology*, 50 (11), pp: 5438-5453.

Cheng, X., Shi, H., Adams, C. y Ma, Y. (2010). Assessment of metal contaminations leaching out from recycling plastic bottles upon treatments. *Environmental Science and Pollution Research International*, 17, pp: 1323-1330.

Choi, L., Kwak, M.Y., Kwak, E.H., Kim, D.H., Han, E.Y., Roh, T., Bae, J.Y., Ahn, I.Y., Jung, J.Y., Kwon, M.J., Jang, D.E., Lim, S.J., Han, S.J., Kang, T.S., Kim, S.H., Kim, H.S. y Lee, M.B. (2010). Comparative nephrotoxicitiy induced by melamine, cyanuric acid, or a mixture of both chemicals in either sprague-dawley rats or renal cell lines. *Journal of Toxicology and Environmental Health*: Part A, 73 (21-22), pp: 1407-1419.

Chopra, A., Pereira, G., Gomes, T., Pereira, J., Prabhu, P., Krishnan, S. y Rao, C.V. (1996). A study of chromium and ethanol toxicity in female Wistar rats. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 53, pp: 91-106.

Cirillo, T., Esposito, F., Fasano, E., Scognamiglio, G., Di Marco Pisciottano, I., Mita, G.D. y Gallo, P. (2019). BPA, BPB, BPF, BADGE and BFDGE in Canned Beers from the Italian Market. *Food Additives and Contaminants*: Part B, 12, pp: 268-274.

Coogan, T.P., Motz, J., Snyder, C.A., Squibb, K.S. y Costa, M. (1991). Differential DNA-protein crosslinking in lymphocytes and liver following chronic drinking water exposure of rats to potassium chromate. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 109, pp: 60-72.

Crisponi, G., Dean, A., Di Marco, V., Lachowicz, J.I., Nurchi, V.M., Remelli, M. y Tapparo, A. (2013). Different approaches to the study of chelating agents for iron and aluminium overload pathologies. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405 (2-3), pp: 585-601.

Cunha, S.C., Alves, R.N., Fernandes, J.O., Casal, S. y Marques, A. (2017). First Approach to Assess the Bioaccessibility of Bisphenol A in Canned Seafood. *Food Chemistry*, 232, pp: 501-507.

Dancaster, C.P., Duckworth, W.C. y Matthews, R.E.P. (1966). Stokes-Adams attacks following sodium antimonylgluconate (Triostam). *South African Medical Journal*, 40, pp: 1029-1030.

De Flora, S., Badolati, G.S., Serra, D., Picciotto, A., Magnolia, M.R. y Savarino, V. (1987). Circadian reduction of chromium in the gastric environment. *Mutation Research*, 192, pp: 169-174.

De Flora, S. (2000). Threshold mechanisms and site specificity in chromium (VI) carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 21, pp: 533-541.

De Liberto, S.T. y Werner, S.J. (2016). Review of anthraquinone applications for pest management and agricultural crop protection. *Pest Management Science*, 72 (10), pp: 1813-1825.

De Santis, D. y Moresi, M. (2007). Production of alizarin extracts from *Rubia tinctorum* and assessment of their dyeing properties. *Industrial Crops and Products*, 26, pp: 151-162.

Demeneix, B. y Slama, R. (2019). Policy Department for Citizens' Rights and Constitutional Affairs. Directorate General for Internal Policies of the Union. Endocrine Disruptors: from Scientific Evidence to Human

Health Protection. Disponible en: https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/STUD/2019/608866/IPOL_STU(2019)608866_EN.pdf [acceso: 17-06-22].

Demirhan, B.E. y Demirhan, B. (2022). Investigation of Twelve Significant Mycotoxin Contamination in Nut-Based Products by the LC–MS/MS Method. *Metabolites*, 12 (2): 120, pp: 1-12.

DG-SANTE (2017). European Commission Health and Food Safety Directorate-General. Summary report of the standing committee on plants, animals, food and feed held in Brussels on 16 February 2017 - 17 February 2017 (Section Phytopharmaceuticals – Pesticides Residues). Disponible en: https://food.ec.europa.eu/system/files/2017-03/sc_phyto_20170216_ppr_sum.pdf [acceso: 11-06-22].

Díaz-Galiano, F.J., Murcia-Morales, M., Gómez-Ramos, M.M., Ferrer, C. y Fernández-Alba, A.R. (2021). Presence of anthraquinone in coffee and tea samples. An improved methodology based on mass spectrometry and a pilot monitoring programme. *Analytical Methods*, 13, pp: 99-109.

Ding, G., Jing, Y., Han, Y., Sun, P., Liang, S., Liu, J., Wang, X., Lian, Y., Fang, Y., Jin, Z. y Li, W. (2021). Monitoring of Aluminum content in food and assessment of dietary exposure of residents in North China. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 14 (3), pp: 177-183.

Dodd, D.E., Layko, D.K., Cantwell, K.E., Willson, G.A. y Thomas, R.S. (2013). Subchronic toxicity evaluation of anthraquinone in Fischer 344 rats. *International Journal of Toxicology*, 32 (5), pp: 358-367.

Doi, A.M., Irwin, D. y Bucher. J.R. (2005). Influence of functional group substitutions on the carcinogenicity of anthraquinone in rats and mice: analysis of long-term bioassays by the National Cancer Institute and the National Toxicology Program. *Journal of Toxicology and Environmental Health B Critical Reviews*, 8 (2), pp: 109-126.

Dongxiu, H., Bo, C., Qingqing, T. y Shouzhou, Y. (2009). Simultaneous determination of five anthraquinones in medicinal plants and pharmaceutical preparations by HPLC with fluorescence detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 49 (4), pp: 1123-1127.

Dubravka, R., Daniela, J., Andrea, H.T., Domagoj, K., Nevenka, K., Lada, R., Daavor, Z., Maja, P. y Maja, S.K. (2019). Sterigmatocystin moderately induces oxidative stress in male Wistar rats after short-term oral treatment. *Mycotoxin Research*, 36, pp: 181-191.

Duval, J., Pecher, V., Poujol, M. y Lesellier, E. (2016). Research advances for the extraction, analysis and uses of anthraquinones: A review. *Industrial Crops and Products*, 94, pp: 812-833.

Ebrahimi, A., Emadi, A., Arabameri, M., Jayedi, A., Abdolshahi, A., Yancheshmeh, B.S. y Shariatifar, N. (2022). The prevalence of aflatoxins in different nut samples: A global systematic review and probabilistic risk assessment. *AIMS Agriculture and Food*, 7, pp: 130-148.

ECHA (2022a). European Chemical Agency. Substance Infocard. Anthraquinone. Disponible en: https://echa.europa.eu/es/substance-information/-/substanceinfo/100.001.408 [acceso: 17-04-22].

ECHA (2022b). European Chemical Agency. Substance Infocard. Melamine. Disponible en: https://echa.europa.eu/es/substance-information/-/substanceinfo/100.003.288 [acceso: 17-04-22].

EDQM (2013). European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. Metals and alloys used in food contact materials and articles - A practical guide for manufacturers and regulators. 1ª edición.

EFSA (2007). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain (CONTAM) related to the potential increase of consumer health risk by a possible increase of the existing maximum levels for aflatoxins in almonds, hazelnuts and pistachios and derived products. *EFSA Journal*, 5: 446, pp: 1-127.

EFSA (2008a). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials on a request from European Commission on Safety of aluminium from dietary intake. *EFSA Journal*, 754, pp: 1-34.

EFSA (2008b). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food – Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA Journal*, 724, pp: 1-114.

EFSA (2010). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on Melamine in Food and Feed. *EFSA Journal*, 8, pp: 1-145.

EFSA (2012). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Reasoned opinion on the review of the existing maximum residue levels (MRLs) for anthraquinone according to Article 12 of Regulation (EC) No. 396/2005. *EFSA Journal*, 10 (6): 2761, pp: 1-6.

EFSA (2013a). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Dietary exposure to aluminium-containing food additives. *EFSA Supporting Publications*, EN-411, pp: 1-17.

EFSA (2013b). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific opinion on the risk for public and animal health related to the presence of sterigmatocystin in food and feed. *EFSA Journal*, 11 (6): 3254, pp: 1-81.

EFSA (2014). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of chromium in food and drinking water. *EFSA Journal*, 12 (3): 3595, pp: 1-261.

EFSA (2018). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Re-evaluation of aluminium sulphates (E 520–523) and sodium aluminium phosphate (E 541) as food additives. *EFSA Journal*, 16 (7): 5372, pp: 1-40.

EFSA (2019). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific report on the 2017 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA Journal*, 17 (6): 5743, pp: 152.

EFSA (2020a). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Compendium of Botanicals. Disponible en: https://www.efsa.europa.eu/es/data-report/compendium-botanicals [acceso: 11-08-22].

EFSA (2020b). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Risk assessment of aflatoxins in food. *EFSA Journal*, 18 (3): 6040, pp: 1-112.

EFSA (2020c). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Assessment of new information on Bisphenol S (BPS) submitted in response to the Decision 1 under REACH Regulation (EC) No. 1907/2006. *EFSA Supporting Publications*, EN-1844, pp: 1-39.

EFSA (2021). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Re-evaluation of the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. Draft Scientific Opinion 15/12/2021, pp: 1-428. Disponible en: https://www.canr.msu.edu/cris/research/EFSA%20Draft%20opinion%20BPA.pdf [acceso: 17-06-22].

EPA (1979). United States Environmental Protection Agency. Antimony. Water-related environmental fate of 129 priority pollutants. Vol. 1: Introduction and Technical Background, Metals and Inorganics, Pesticides and PCBs. Washington, DC. Disponible en: https://semspub.epa.gov/work/03/108720.pdf [acceso: 17-06-22].

EPA (2018). United States Environmental Protection Agency. Edition of the drinking water standards and health advisories. Washington, DC: Office of Water. Disponible en: https://www.epa.gov/sites/production/files/2018-03/documents/dwtable2018.pdf [acceso: 17-06-22].

EPA (2022). United States Environmental Protection Agency. Secondary Drinking Water Standards: Guidance for Nuisance Chemicals. Disponible en: https://www.epa.gov/sdwa/secondary-drinking-water-standards-guidance-nuisance-chemicals [acceso: 17-06-22].

Exley, C. (1999). A molecular mechanism of aluminum-induced Alzheimer's disease? *Journal of Inorganic Biochemistry*, 76, pp: 133-140.

Fan, Y.Y., Zheng, J.L., Ren, J.H., Luo, J., Cui, X.Y. y Ma, L.Q. (2014). Effects of storage temperature and duration on release of antimony and bisphenol A from polyethylene terephthalate drinking water bottles of China. *Environmental Pollution*, 192, pp: 113-120.

FAO (2004). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Worldwide Regulations for Mycotoxins in Food and Feed 2003, 1ª edición. Roma. Disponible en: https://www.fao.org/3/y5499e/y5499e.pdf [acceso: 17-06-22].

FAO/OMS (2015). Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Contaminants in Foods. 9th session. New Delhi, India. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FShared%2BDocuments%252FArchive%252FMeetings%252FCCCF%252Fcccf9%252Fcf09_08e.pdf [acceso: 17-06-22].

FDA (2017). United States Food and Drug Administration. Subpart B - Requirements for specific standardized beverages. Bottled water. Code of Federal Regulations. 21 CFR 165.110. Washington, DC. Disponible en: https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2017-title21-vol2/pdf/CFR-2017-title21-vol2-sec165-110.pdf [acceso: 17-06-22].

Feng S., Li, M., Zhao, D. Li, X., Zhang, L., Wang, Z. y Gao, N. (2017). Simultaneous Determination of 10 Anthraquinones in Rhubarb Based on HPLC-Q-HR/MS. *Chinese Herbal Medicines*, 9 (4), pp: 388-395.

Fernández-Blanco, C., Font, G. y Ruiz, M.J. (2016). Role of quercetin on Caco-2 cells against cytotoxic effects of alternariol and alternariol monomethyl ether. *Food Chemical Toxicology*, 89, pp: 60-66.

Filella, M. (2020). Antimony and PET bottles: Checking facts. *Chemosphere*, 261, pp: 127732.

Fløtre, C.H., Varsi, K., Helm, T., Bolann, B. y Bjørke-Monsen, A.L. (2017). Predictors of mercury, lead, cadmium and antimony status in Norwegian never-pregnant women of fertile age. *PLoS One*, 12 (12): e0189169, pp: 1-12.

Gallart-Ayala, H., Moyano, E. y Galceran, M.T. (2011). Analysis of bisphenols in soft drinks by on-line solid phase extraction fast liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 683, pp: 227-233.

Gallo, P., Di Marco, I., Esposito, F., Fasano, E., Scognamiglio, G., Mita, G. y Cirillo, T. (2017). Determination of BPA, BPB, BPF, BADGE and BFDGE in Canned Energy Drinks by Molecularly Imprinted Polymer Cleaning up and UPLC with Fluorescence Detection. *Food Chemistry*, 220, pp: 406-412.

Gallo, P., Imbimbo, S., Alvino, S., Castellano, V., Arace, O., Soprano, V., Esposito, M., Serpe, F.P. y Sansone, D. (2021). Contamination by aflatoxins B/G in food and commodities imported in southern Italy from 2017 to 2020: A risk-based evaluation. *Toxins*, 13 (6): 368, pp: 1-13.

Gálvez-Ontiveros, Y., Moscoso-Ruiz, I., Rodrigo, L., Aguilera, M., Rivas, A. y Zafra-Gómez, A. (2021). Presence of Parabens and Bisphenols in Food Commonly Consumed in Spain. *Foods*, 10 (1): 92, pp: 1-21.

García-Moraleja, A., Font, G., Manes, J. y Ferrer, E. (2015). Analysis of mycotoxins in coffee and risk assessment in Spanish adolescents and adults. *Food and Chemical Toxicology*, 86, pp: 225-233.

Gibb, H.J., Lees, P.S., Pinsky, P.F. y Rooney, B.C. (2000a). Clinical findings of irritation among chromium chemical production workers. *American Journal of Industrial Medicine*, 38 (2), pp: 127-131.

Gibb, H.J., Lees, P.S., Pinsky, P.F. y Rooney, B.C. (2000b). Lung cancer among workers in chromium chemical production. *American Journal of Industrial Medicine*, 38 (2), pp: 115-126.

Glorennec, P., Lucas, J.P., Mercat, A.C., Roudot, A.C. y Le Bot, B. (2016). Environmental and dietary exposure of young children to inorganic trace elements. *Environment International*, 97, pp: 28-36.

González, N., Cunha, S.C., Ferreira, R., Fernandes, J.O., Marquès, M., Nadal, M. y Domingo, J.L. (2020). Concentrations of Nine Bisphenol Analogues in Food Purchased from Catalonia (Spain): Comparison of Canned and Non-Canned Foodstuffs. *Food Chemical Toxicology*, 136: 110992.

Greifenstein, M., White, D.W., Stubner, A., Hout, J. y Whelton, A.J. (2013). Impact of temperature and storage duration on the chemical and odor quality of military packaged water in polyethylene terephthalate bottles. *Science of the Total Environment*, 456-457, pp: 376-383.

Gruber-Dorninger, C., Novak, B., Nagl, V. y Berthiller, F. (2017). Emerging mycotoxins: beyond traditionally determined food contaminants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, pp: 7052-7070.

Grumetto, L., Gennari, O., Montesano, D., Ferracane, R., Ritieni, A., Albrizio, S. y Barbato, F. (2013). Determination of Five Bisphenols in Commercial Milk Samples by Liquid Chromatography Coupled to Fluorescence Detection. *Journal of Food Protection*, 76, pp: 1590-1596.

Guan, X. y Deng, Y. (2016). Melamine-associated urinary stone. *International Journal of Surgery*, 36 (Part D), pp: 613-617.

Guo, X. y Mei, N. (2016). Aloe vera: A review of toxicity and adverse clinical effects. J*ournal Environmental Science and Health C*, *Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, 34 (2), pp: 77-96.

Gurnani, N., Sharma, A. y Talukder, G. (1992). Cytotoxic effects of antimony trichloride on mice in vivo. *Cytobios*, 70 (281), pp: 131-136.

Hansen, C., Tsirigotaki, A., Bak, S.A., Pergantis, S.A., Stürup, S., Gammelgaard, B. y Hansen, H.R. (2010). Elevated antimony concentrations in commercial juices. *Journal of Environmental Monitoring*, 12, pp: 822-824.

He, Z., Wei, Z., Zhang, Q., Zou, J. y Pan, X. (2019). Metal oxyanion removal from wastewater using manganese-oxidizing aerobic granular sludge. *Chemosphere*, 236: 124353.

Hu, Y., Zhang, J., Kong, W., Zhao, G. y Yang, M. (2017). Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry*, 220, pp: 1-8.

Hua, L., Wu, C., Zhang, H., Cao, L.Q., Wei, T. y Guo, J. (2021). Biochar-induced changes in soil microbial affect species of antimony in contaminated soils. *Chemosphere*, 263: 127795.

Huang, X.H., Zhang, S.H., Li, Y.H., Wang, J.I., Yan, X., Xing, L.X. y Wang, F.R. (2004). Carcinogenic effects of sterigmatocystin and deoxynivalenol in NIH mice. *Zhonghua Zhongliu Zazhi*, 26, pp: 705-708.

Huang, T., Ming, J., Zhong, J., Zhong, J., Zhong, Y., Wu, H., Liu, H. y Li, B. (2019). Three new Anthraquinones, one new Benzochromene and one new Furfural glycoside from *Lasianthus acuminatissimus*. *Natural Product Research*, 33, (13), pp: 1916-1923.

IARC (1987). International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Overall Evaluation of Carcinogenity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. IARC Monographs Volumes 1-42. Disponible en: https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-Supplements/Overall-Evaluations-Of-Carcinogenicity-An-Updating-Of-IARC-Monographs-Volumes-1%E2%80%9342-1987 [acceso: 17-06-22].

IARC (1990). International Agency for Research on Cancer. Chromium (VI) compounds. Disponible en: https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100C-9.pdf [acceso: 17-06-22].

IARC (2012). International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Arsenic, metals, fibres, and dusts, Volume 100 C, A review of human carcinogens, pp: 147-164. Disponible en: https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100C.pdf [acceso: 17-06-22].

IARC (2013). International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Chemicals Present in Industrial and Consumer Products, Food and Drinking-water. Volume 101. Disponible en: https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono101.pdf [acceso: 17-06-22].

IARC (2015). International Agency for Research on Cancer. Agents classified by the IARC monographs. Volumes 1-114. Disponible en: http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/List_of_Classifications_Vol1-114.pdf [acceso: 17-06-22].

IARC (2018). International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Anthraquinone. Disponible en: https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono101-001.pdf [acceso: 11-08-22].

IARC (2019). International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some Chemicals That Cause Tumours of the Urinary Tract in Rodents. Volumen 119. Disponible en: https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Some-Chemicals-That-Cause-Tumours-Of-The-Urinary-Tract-In-Rodents-2019 [acceso: 11-08-22].

Jacob, C.C., Reimschuessel, R., Von Tungeln, L.S., Olson, G.R., Warbritton, A.R., Hattan, D.G., Beland, F.A. y Gamboa da Costa, G. (2011). Dose-response assessment of nephrotoxicity from a 7-day combined exposure to melamine and cyanuric acid in F344 rats. *Toxicological Sciences*, 119 (2), pp: 391-397.

JECFA (2011). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Evaluation of certain food additives and contaminants. Seventy-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 966. Disponible en: https://apps.who.int/iris/handle/10665/44788 [acceso: 17-06-22].

JECFA (2012). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Seventy-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series: 65. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44813/9789241660655_eng.pdf?sequence=1 [acceso: 17-06-22].

Jeyasundar, P.G.S.A., Ali, A., Azeem, M., Li, Y., Guo, D., Sikdar, A., Abdelrahman, H., Kwon, E., Antoniadis, V., Mani, V.M. y Shaheen, S.M. (2021). Green remediation of toxic metals contaminated mining soil using bacterial consortium and *Brassica juncea*. *Environmental Pollution*, 277: 116789.

Kabak, B., Dobson, A.D. y Var, I. (2006). Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, pp: 593-619.

Kalkan, H., Beriat, P., Yardimci, Y. y Pearson, T.C. (2011). Detection of contaminated hazelnuts and ground red chili pepper flakes by multispectral imaging. *Computers and Electronics in Agriculture*, 77, pp: 28-34.

Kerger, B.D., Paustenbach, D.J., Corbett, G.E. y Finley, B.L. (1996). Absorption and elimination of trivalent and hexavalent chromium in humans following ingestion of a bolus dose in drinking water. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 141, pp: 145-158.

Keskin, Z.S. y Gürsoy, N. (2019). Investigatıon of natural mycoflora and aflatoxin formation in hazelnuts and products. *Cumhuriyet Science Journal*, 40, pp: 967-977.

Kirkland, D., Whitwell, J., Deyo, J. y Serex, T. (2007). Failure of antimony trioxide to induce micronuclei or chromosomal aberrations in rat bone-marrow after sub-chronic oral dosing. *Mutation Research*, 627 (2), pp: 119-128.

Kitano, R., Ogura, T., Lock, N., Clifford, R., Kowalski, J., Cochran, J. y Li, D. (2018). Residual pesticides analysis of botanical ingredients using gas chromatography triple quadrupole mass spectrometry. Shimadzu Corporation in collaboration with Restek Corporation. Disponible en: https://www.restek.com/globalassets/pdfs/literature/fsar3080-unv.pdf [acceso: 17-06-22].

Klaassen, C.D. (2018). *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 9ª edición. McGraw Hill.

Kocic-Tanackov, S., Dimic, G., Levic, J., Tanackov, I., Tepic, A., Vujicic, B. y Gvozdanović-Varga, J. (2012). Effects of onion (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.) essential oils on the *Aspergillus versicolor* growth and sterigmatocystin production. *Journal of Food Science*, 77 (5), pp: M278-M284.

Krishnaswamy, R., Devaraj, S.N. y Padma, V.V. (2010). Lutein protects HT-29 cells against Deoxynivalenol-induced oxidative stress and apoptosis: prevention of NF-kappaB nuclear localization and down regulation of NF-kappaB and Cyclo-Oxygenase-2 expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 49, pp: 50-60.

Kumar, A. y Rana, S.V.S. (1982). Lipid accumulation in chromium poisoned rats. *International Journal of Tissue Reactions*, 4, pp: 291-295.

Kumar, A., Rana, S.V.S. y Prakash, R. (1985). Dysenzymia induced by hexavalent chromium. *International Journal of Tissue Reactions*, 7, pp: 333-338.

Kumar, M., Xiong, X., Sun, Y., Yu, I.K., Tsang, D.C., Hou, D., Gupta, J., Bhaskar, T. y Pandey, A. (2020). Critical review on biochar-supported catalysts for pollutant degradation and sustainable biorefinery. *Advanced Sustainable Systems*, 4 (10): 1900149.

Kuroda, K., Endo, G., Okamoto, A., Yoo, Y.S. y Horiguchi, S (1991). Genotoxicity of beryllium, gallium and antimony in short-term assays. *Mutation Researc*h, 264 (4), pp: 163-170.

Lawn, S.D., Armstrong, M., Chilton, D. y Whitty, C.J.M. (2006). Electrocardiographic and biochemical adverse effects of sodium stibogluconate during treatment of cutaneous and mucosal leishmaniasis among returned travellers. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 100 (3), pp: 264-269.

Lee, S., An, K.S., Kim, H.J., Noh, H.J., Lee, J., Lee, J., Song, K.S., Chae, C. y Ryu, H.Y. (2022). Pharmacokinetics and toxicity evaluation following oral exposure to bisphenol F. *Archives of Toxicology*, 96 (6), pp: 1711-1728.

Li, W.C. y Chow, C.F. (2017). Adverse child health impacts resulting from food adulterations in the Greater China Region. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 12, pp: 3897-3916.

Li, Q., Song, P. y Wen, J. (2019). Melamine and food safety: a 10-year review. *Current Opinion in Food Scienc*e, 30, pp: 79-84.

Liang, W., Chen, Y., Li, X., Guo, F., Sun, J., Zhang, X., Xu, B. y Gao, W. (2021). Label-Free Proteomic Analysis of Smoke-Drying and Shade-Drying Processes of Postharvest Rhubarb: A Comparative Study. *Frontiers in Plant Science*, 12: 663180, pp: 1-16.

Liao, C. y Kannan, K. (2013). Concentrations and profiles of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from the United States and their implications for human exposure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, pp: 4655-4662.

Liao, A. y Kannan, K. (2014). A survey of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from nine cities in China. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 31, pp: 319-329.

Liu, Y., Xing, X., Wang, J., Xing, L., Su, Y., Yao, Z., Yan, X., Wang, J. y Zhang, X. (2012). Sterigmatocystin alters the number of FoxP3+ regulatory T cells and plasmacytoid dendritic cells in BALB/c mice. *Food and Chemical Toxicology*, 50, pp: 1920-1926.

Lou, J.L., Tian, H.J., Meng, Z.H. y Gou, Z.Q. (1995). Detection of sterigmatocystin in food/ feed samples from areas with various liver/stomach cancer incidences by enzyme-linked immunosorbent assay. *Wei Sheng Yan Jiu*, 24, pp: 28-31.

Louch (2008). The potential for migration of anthraquinone from unbleached linerboard. Special Report No. 08-02, TSCA Section 8(e). Submission of test results related to exposure to anthraquinone. Disponible en: http://www.epa.gov/oppt/tsca8e/pubs/8emonthlyreports/2008/8eaug2008.html and 8EHQ-0808-17235A [acceso: 17-06-22].

Macfie, A., Hagan, E. y Zhitkovich, A. (2010). Mechanism of DNA-protein cross-linking by chromium. *Chemical Research in Toxicology*, 23 (2), pp: 341-347.

Malik, S., Sharma, N., Sharma, U.K., Singh, N.P., Bhushan, S., Sharma, M., Sinha, A.K. y Ahuja, P.S. (2010). Qualitative and quantitative analysis of anthraquinonederivatives in rhizomes of tissue culture-raised Rheum emodi Wall. plants. *Journal of Plant Physiology*, 167, pp: 749-756.

Malik, E.M. y Muller, C.E. (2016). Anthraquinones as pharmacological tools and drugs. *Medicinal Research Reviews*, 36, pp: 705-748.

Matías, C., López, S., Matías-Pérez, D. y García-Montalvo, I. (2018). El aluminio empleado en el tratamiento de aguas residuales y su posible relación con enfermedad de Alzheimer. *Journal of Negative and No Positive Results*, 3 (2), pp: 139-143.

Melnick, R.L., Boorman, G.A., Haseman, J.K., Montali, R.J. y Huff, J. (1984). Urolithiasis and bladder carcinogenicity of melamine in rodents. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2, pp: 292-303.

Melough, M.M., Foster, D., Fretts, A.M. y Sathyanarayana, S. (2020). Dietary Sources of Melamine Exposure among US Children and Adults in the National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2004. *Nutrients*, 12 (12): 3844, pp: 1-13.

Menke, A., Guallar, E. y Cowie, C.C. (2016). Metals in urine and diabetes in U.S. adults. *Diabetes*, 65 (1), pp: 164-171.

Mok, W.M. y Wai, C.M. (1990). Distribution and mobilization of arsenic and antimony species in the Coeur d'Alene River, Idaho. *Environmental Science & Technology*, 24, pp: 102-108.

Nemec, A. y Barchowsky, A. (2009). Signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) is essential for chromium silencing of gene induction in human airway epithelial cells. *Toxicological Sciences*, 110 (1), pp: 212-223.

Nemec, A., Zubritsky, L.M. y Barchowsky, A. (2010). Chromium (VI) stimulates Fyn to initiate innate immune gene induction in human airway epithelial cells. *Chemical Research in Toxicology*, 23 (2), pp: 396-404.

Neves, D.B., Caldas, E.D. y Sampaio, R.N. (2009). Antimony in plasma and skin of patients with cutaneous leishmaniasis-relationship with side effects after treatment with meglumine antimoniate. *Tropical Medicine & International Health*, 14 (12), pp: 1515-1522.

NTP (1992). National Toxicology Program. United States Department of Health and Human Services. NTP report on the toxicity studies of antimony potassium tartrate in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water and intraperitoneal injection studies). Disponible en: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/st_rpts/tox011.pdf [acceso: 17-06-22].

NTP (2001). National Toxicology Program. United States Department of Health and Human Services. NTP toxicology and carcinogenesis studies of EMODIN (CAS NO. 518-82-1) feed studies in F344/N rats and B6C3F1 mice. Disponible en: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr493.pdf [acceso: 17-06-22].

NTP (2005). National Toxicology Program. United States Department of Health and Human Services. NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of anthraquinone (CAS No. 84-65-1) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Feed studies). Disponible en: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr494.pdf?utm_source=direct&utm_medium=prod&utm_campaign=ntpgolinks&utm_term=tr494 [acceso: 17-06-22].

NTP (2007). National Toxicology Program. United States Department of Health and Human Services. NTP technical report on the toxicity studies of sodium dichromate dihydrate (CAS No. 7789-12-0) administered in drinking water to male and female F344/N rats and B6C3F1 mice and male BALB/c and am3-C57BL/6 mice. Disponible en: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/st_rpts/tox072.pdf [acceso: 17-06-22].

NTP (2008). National Toxicology Programme. United States Department of Health and Human Services. NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Sodium Dichromate Dihydrate (CAS No. 7789-12-0) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (drinking water studies). Disponible en: http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr546.pdf [acceso: 17-06-22].

NTP (2018). National Toxicology Program. United States Department of Health and Human Services. Report on Carcinogens. Monograph on Antimony Trioxide. RoC Monograph 13. Disponible en: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/monographs/antimony_final20181019_508.pdf [acceso: 17-06-22].

O'Brien, T.J., Ceryak, S. y Patierno, S.R. (2003). Complexities of chromium carcinogenesis: role of cellular response, repair and recovery mechanisms. *Mutation Research*, 533, pp: 3-36.

O'Flaherty, E.J. (1996). A physiologically-based model of chromium kinetics in the rat. T*oxicology and Applied Pharmacology*, 138, pp: 54-64.

O'Hara, K.A., Klei, L.R. y Barchowsky, A. (2003). Selective activation of Src family kinases and JNK by low levels of chromium (VI). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 190 (3), pp: 214-223.

OMS (2000). Organización Mundial de la Salud. Regional Office for Europe. Air Quality Guidelines, second edition. Chapter 6.4-Chromium. Copenhague. Disponible en: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0017/123074/AQG2ndEd_6_4Chromium.PDF [acceso: 17-06-22].

OMS (2003a). Organización Mundial de la Salud. Antimony in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Ginebra. Disponible en: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/antimony.pdf?sfvrsn=e1e9a0a6_4 [acceso: 17-06-22].

OMS (2003b). Organización Mundial de la Salud. Guidelines for Drinking-water Quality. 4ª edición. Ginebra. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44584/9789241548151_eng.pdf;jsessionid=E936D34F5D74A4CFDB2978C0FFC71495?sequence=1 [acceso: 17-06-22].

OMS (2008). Organización Mundial de la Salud. Toxicological and Health Aspects of Melamine and Cyanuric Acid: report of a WHO Expert Meeting in collaboration with FAO Supported by Health Canada, Ottawa, Canada, 1-4 December 2008. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44106/9789241597951_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y [acceso: 17-06-22].

Palacios, R., Osorio, L.E., Grajales, L.F. y Ochoa, M. (2001). Treatment failure in children in a randomized clinical trial with 10 and 20 days of meglumine antimonate for cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania viannia* species. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 64 (3-4), pp: 187-193.

Palansooriya, K.N., Shaheen, S.M., Chen, S.S., Tsang, D.C., Hashimoto, Y., Hou, D., Bolan, N.S., Rinklebe, J. y Ok, Y.S. (2020). Soil amendments for immobilization of potentially toxic elements in contaminated soils: a critical review. *Environment international*, 134: 105046, pp: 1-29.

Panasiuk, L., Jedziniak, P., Pietruszka, K., Piatkowska, M. y Bocian, L. (2019). Frequency and levels of regulated and emerging mycotoxins in silage in Poland. *Mycotoxin Research*, 35, pp: 17-25.

Pearson, A.J. y Ashmore, E. (2020). Risk assessment of antimony, barium, beryllium, boron, bromine, lithium, nickel, strontium, thallium and uranium concentrations in the New Zealand diet. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 37 (3), pp: 451-464.

Pelletier, J.P., Yaron, M., Haraoui, B., Cohen, P., Nahir, M.A., Choquette, D., Wigler, I., Rosner, I.A. y Beaulieu, A.D. (2000). Efficacy and safety of diacerein in osteoarthritis of the knee: a double-blind, placebo-controlled trial. The Diacerein Study Group. *Arthritis and Rheumatism*, 43 (10), pp: 2339-2348.

Poirier, J., Semple, H., Davies, J., Lapointe, R., Dziwenka, M., Hiltz, M. y Mujibi, D. (2011). Double-blind, vehicle-controlled randomized twelve-month neurodevelopmental toxicity study of common aluminum salts in the rat. *Neuroscience*, 193, pp: 338-362.

Poon, R., Chu, I., Lecavalier, P., Valli, V.E., Foster, W., Gupta, S. y Thomas, B. (1998). Effects of antimony on rats following 90-day exposure via drinking water. *Food and Chemical Toxicology*, 36 (1), pp: 21-35.

Purchase, I.F. y van der Watt, J.J. (1969). Acute toxicity of sterigmatocystin to rats. *Food and Chemical Toxicology*, 7, pp: 135-139.

Rahman, S., Carter, P. y Bhattarai, N. (2017). Aloe Vera for Tissue Engineering Applications. *Journal of Functional Biomaterials*, 8 (1), pp: 1-17.

Rank, C., Nielsen, K.F., Larsen, T.O., Varga, J., Samson, R.A. y Frisvad, J.C. (2011). Distribution of sterigmatocystin in filamentous fungi. *Fungal Biology*, 115, pp: 406-420.

RASFF (2022). Rapid Alert System for Food and Feed. Disponible en: https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/?event=SearchByKeyword&orderby=product_category&orderDir=desc/ [acceso: 31-03-22].

Regueiro, J. y Wenzl, T. (2015). Determination of Bisphenols in Beverages by Mixed-Mode Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1422, pp: 230-238.

Reynolds, M., Armknecht, S., Johnston, T. y Zhitkovich, A. (2012). Undetectable role of oxidative DNA damage in cell cycle, cytotoxic and clastogenic effects of Cr (VI) in human lung cells with restored ascorbate levels. *Mutagenesis*, 27 (4), pp: 437-443.

Richardson, B.A. (1994). Sudden infant death syndrome: A possible primary cause. *Journal Forensic Science Society*, 34 (3), pp: 199-204.

Rovina, K. y Siddiquee, S. (2015). A review of recent advances in melamine detection techniques. *Journal Food Composition and Analysis*, 43, pp: 25-38.

Russo, G., Barbato, F., Mita, D.G. y Grumetto, L. (2019). Occurrence of Bisphenol A and its analogues in some foodstuff marketed in Europe. *Food and Chemical Toxicology*, 131: 110575.

Sadeghi, M., Nematifar, Z., Fattahi, N., Pirsaheb, M. y Shamsipur, M. (2016). Determination of Bisphenol A in Food and Environmental Samples Using Combined Solid-Phase Extraction-Dispersive Liquid-Liquid Microextraction with Solidification of Floating Organic Drop Followed by HPLC. *Food Analytical Methods*, 9, pp: 1814-1824.

Saghazadeh, A. y Rezaei, N. (2017). Systematic review and meta-analysis links autism and toxic metals and highlights the impact of country development status: Higher blood and erythrocyte levels for mercury and lead, and higher hair antimony, cadmium, lead, and mercury. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 79 (Pt B), pp: 340-368.

Salnikow, K. y Zhitkovich, A. (2008) Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium. *Chemical Research in Toxicology*, 21, pp: 28-44.

Schneiderman, M.A., Sharma, A.K. y Lock, D.C. (1987). Determination of anthraquinone in paper and wood using supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography A*, 409, pp: 343-353.

Scinicariello, F. y Buser, M.C. (2016). Urinary antimony and leukocyte telomere length: An analysis of NHANES 1999-2002. *Enviromental Research*, 150, pp: 513-518.

Sedman, R.M., Beaumont, J., McDonald, T.A., Reynolds, S., Krowech, G. y Howd, R. (2006). Review of the Evidence Regarding the Carcinogenicity of Hexavalent Chromium in Drinking Water. *Journal of Environmental Science and Health: Part C*, 24, pp: 155-182.

Shi, Z., Zhu, X., Cheng, Q. y Zhang, H. (2007). Micellar Extraction and Preconcentration of Anthraquinone Derivatives from Rhubarb Prior to Their HPLC-DAD Determination. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 30, pp: 255-271.

Shi, Y.B., Li, H.L., Wang, H.Q., Yang, Y.B., Zhang, X.Y., Wang, H., Zhu, Z.J., Zhang, Z.Y. y Zhang, C.A. (2014). Simultaneous determination of five anthraquinones in a Chinese traditional preparation by RP-HPLC using an improved extraction procedure. *Journal of Integrative Medicine*, 12, pp: 455-462.

Shi, X., Dong, R., Chen, J., Yuan, Y., Long, Q., Guo, J., Li, S. y Chen, B. (2020). An assessment of melamine exposure in Shanghai adults and its association with food consumption. *Environment International*, 135: 105363, pp: 1-7.

Shotyk, W., Krachler, M. y Chen, B. (2006). Contamination of Canadian and European bottled waters with antimony from PET containers. *Journal Environment Monitoring*, 8, pp: 288-292.

Shotyk, W. y Krachler, M. (2007). Contamination of bottled waters with antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) increases upon storage. *Environmental Science & Technology*, 41 (5), pp: 1560-1563.

Shukla, V., Asthana, S., Gupta, P., Dwivedi, P.D., Tripathi, A. y Das, M. (2017). Toxicity of naturally occurring anthraquinones. *Advances in Molecular Toxicology*, 11, pp: 1-50.

Sivakumar, V., Thanislass, J., Niranjali, S. y Devaraj, H. (2001). Lipid peroxidation as a possible secondary mechanism of sterigmatocystin toxicity. *Human & Experimental Toxicology*, 20, pp: 398-403.

Smith, A.H. y Steinmaus, C.M. (2009). Health Effects of Arsenic and Chromium in Drinking Water: Recent Human Findings. *Annual Review of Public Health*, 30, pp: 107-122.

Sreemannarayana, O., Frohlich, A.A. y Marquardt, R.R. (1988). Effects of repeated intraabdominal injections of sterigmatocystin on relative organ weights, concentration of serum and liver constituents, and histopathology of certain organs of the chick. *Poultry Science Journal*, 67, pp: 502-509.

Stodůlková, E., Man, P., Kolarík, M. y Flieger, M. (2010). High-performance liquidchromatography-offline mass spectrometry analysis of anthraquinones produced by Geosmithia lavendula. *Journal of Chromatography A*, 1217 (40), pp: 6296-6302.

Stroka, J., Dasko, L., Spangenberg, B. y Anklam, E. (2004). Determination of the mycotoxin, sterigmatocystin, by thin-layer chromatography and reagent free derivatisation. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 27, pp: 2101-2111.

Sun, P., Wang, J., Shen, J. y Wei, H. (2011). Residues of melamine and cyanuric acid in milk and tissues of dairy cows fed different doses of melamine. *Journal of Dairy Science*, 94, pp: 3575-3582.

Sun, H., Brocato, J. y Costa, M. (2015). Oral Chromium Exposure and Toxicity. *Current Environmental Health Reports*, 2 (3), pp: 295-303.

Sundar, S., Sinha, P.R., Agrawal, N.K., Srivastava, R., Rainey, P.M., Berman, J.D., Murray, H.W. y Singh, V.P. (1998). A cluster of cases of severe cardiotoxicity among kala-azar patients treated with a high-osmolarity lot of sodium antimony gluconate. *American Jounal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59 (1), pp: 139-143.

Supe, U. (2011). Analysis of Anthraquinone in *Aloe barbadensis* by using RP-HPLC. *International Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2 (2), pp: 157-161.

Takahashi, H., Yasaki, H., Nanayama, U., Manabe, M. y Matsuura, S. (1984). Distribution of sterigmatocystin and fungal mycelium in individual brown rice kernels naturally infected by Aspergillus versicolor. *Cereal Chemistry*, 61, pp: 48-52.

Thakur, C.P. (1998). Sodium antimony gluconate, amphotericin, and myocardial damage. *Lancet*, 351 (9120), pp: 1928-1929.

Tian, H., Lou, J. y Du, C. (1995). Determination of sterigmatocystin in cancerous tissues, blood and urine in patients with liver and stomach cancer. *Zhonghua Yufang Yixue Zazhi*, 29 (5), pp: 276-278.

Tian, X.Y., Wong, W.T., Lau, C.W., Wang, Y.X., Cheang, W.S., Liu, J., Lu, Y., Huang, H., Xia, Y. y Chen, Z.Y. (2016). Melamine impairs renal and vascular function in rats. *Scientific Reports*, 6: 28041, pp: 1-10.

Tkachenko, A., Clark, J., Knutson, N., Wallace, B., Bomba, M., Yacopucci, M., Rhodes, B., Nemser, S.M., Guag, J. y Reimschuessel, R. (2015). Investigation of melamine and cyanuric acid deposition in pig tissues using LC-MS/MS methods. *Food and Chemical Toxicology*, 80, pp: 310-318.

UE (1998). Directiva 98/83/CE del Consejo, de 3 de noviembre de 1998, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano. DO L 330 de 5 de diciembre de 1998, pp: 32-54.

UE (2003). Directiva 2003/40/CE de la Comisión, de 16 de mayo de 2003, por la que se fija la lista, los límites de concentración y las indicaciones de etiquetado para los componentes de las aguas minerales naturales, así como las condiciones de utilización del aire enriquecido con ozono para el tratamiento de las aguas minerales naturales y de las aguas de manantial. DO L 126 de 22 de mayo de 2003, pp: 34-39.

UE (2006). Reglamento (CE) Nº 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de diciembre de 2006, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos

(REACH), por el que se crea la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos, se modifica la Directiva 1999/45/CE y se derogan el Reglamento (CEE) Nº 793/93 del Consejo y el Reglamento (CE) Nº 1488/94 de la Comisión así como la Directiva 76/769/CEE del Consejo y las Directivas 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE y 2000/21/CE de la Comisión. DO L 396 de 30 de diciembre de 2006, pp: 1-852.

UE (2007). Decisión de la Comisión 2007/565/CE, de 14 de agosto de 2007, sobre la no inclusión, en los anexos I, IA o IB de la Directiva 98/8/CE del Parlamento Europeo y del Consejo relativa a la comercialización de biocidas, de determinadas sustancias que han de examinarse en el marco del programa de trabajo de diez años contemplado en su artículo 16, apartado 2. DO L 216 de 21 de agosto de 2007, pp: 17-21.

UE (2008). Decisión Nº 2008/798/EC de la Comunidad Europea, del 14 de octubre de 2008, por la que se establecen las condiciones particulares de importación de productos que contienen leche o productos lácteos originarios o procedentes de China y se deroga la Decisión 2008/757/CE de la Comisión. DO L 273 de 15 de octubre de 2008, pp: 18-20.

UE (2009). Reglamento (CE) Nº 450/2009 de la Comisión, de 29 de mayo de 2009, sobre materiales y objetos activos e inteligentes destinados a entrar en contacto con alimentos. DO L 135 de 30 de mayo de 2009, pp: 3-11.

UE (2010a). Reglamento (UE) Nº 257/2010 de la Comisión, de 25 de marzo 2010, por el que se establece un programa para la reevaluación de aditivos alimentarios autorizados de conformidad con el Reglamento (CE) Nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre aditivos alimentarios. DO L 80 de 26 de marzo de 2010, pp: 19-27.

UE (2010b). Reglamento (UE) Nº 37/2010 de la Comisión, de 22 de diciembre de 2009, relativo a las sustancias farmacológicamente activas y su clasificación por lo que se refiere a los límites máximos de residuos en los productos alimenticios de origen animal. DO L 15 de 20 de enero de 2010, pp: 1-72.

UE (2011a). Reglamento (UE) Nº 10/2011 de la Comisión, de 14 de enero de 2011, sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. DO L 12 de 15 de enero de 2011, pp: 1-89.

UE (2011b). Reglamento (UE) Nº 284/2011 de la Comisión, de 22 de marzo de 2011, por el que se establecen condiciones específicas y procedimientos detallados para la importación de artículos plásticos de poliamida y melamina para la cocina originarios o procedentes de la República Popular China y de la Región Administrativa Especial de Hong Kong, China. DO L 77 de 23 de marzo de 2011, pp: 25-29.

UE (2012a). Reglamento (UE) Nº 380/2012 de la Comisión, de 3 de mayo de 2012, por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) Nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que se refiere a las condiciones de utilización y los niveles de utilización de aditivos alimentarios que contienen aluminio. DO L 119 de 4 de mayo de 2012, pp: 14-38.

UE (2012b). Reglamento (UE) Nº 594/2012 de la Comisión, de 5 de julio de 2012, por el que se modifica el Reglamento (CE) Nº 1881/2006 de la Comisión, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios, en lo concerniente a los contenidos máximos de los contaminantes ocratoxina A, PCBs no similares a las dioxinas y melamina en los productos alimenticios. DO L 176 de 6 de julio de 2012, pp: 43-45.

UE (2013). Reglamento (UE) Nº 107/2013 de la Comisión, de 5 de febrero de 2013, por el que se modifica el anexo I de la Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a los niveles máximos de melamina en alimentos enlatados para animales de compañía. DO L 35 de 6 de febrero de 2013, pp: 1-2.

UE (2014). Reglamento (UE) Nº 1146/2014 de la Comisión, de 23 de octubre de 2014, que modifica los anexos II, III, IV y V del Reglamento (CE) N° 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a los límites máximos de residuos de antraquinona, benfluralina, bentazona, bromoxinil, clorotalonil, famoxadona, imazamox, bromuro de metilo, propanil y ácido sulfúrico en determinados productos. DO L 308 de 29 de octubre de 2014, pp: 3-60.

UE (2015). Reglamento (UE) 2015/174 de la Comisión, de 5 de febrero de 2015, por el que se modifica y corrige el Reglamento (UE) Nº 10/2011, sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. DO L 30 de 6 de junio de 2015, pp: 2-9.

UE (2016). Reglamento (UE) 2016/1416 de la Comisión, de 24 de agosto de 2016, que modifica y corrige el Reglamento (UE) Nº 10/2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. DO L 230 de 25 de agosto de 2016, pp: 22-42.

UE (2019). Recomendación (UE) 2019/794 de la Comisión, de 15 de mayo de 2019, relativa a un plan coordinado de control para establecer la presencia de determinadas sustancias que migran desde los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos. DO L 129 de 17 de mayo de 2019, pp: 37-42.

UE (2020). Directiva (UE) 2020/2184 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2020, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano. DO L 435 de 23 de diciembre de 2020, pp: 1-62.

Versilovskis, A., Bartkevics, V. y Mikelsone, V. (2007). Analytical method for the determination of sterigmatocystin in grains using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with electrospray positive ionization. *Journal Chromatography A*, 1157, pp: 467-471.

Versilovskis, A., Van Peteghem, C. y De Saeger, S. (2009). Determination of sterigmatocystin in cheese by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants A*, 26, pp: 127-133.

Vyskocil, A., Viau, C., Cizkova, M. y Truchon, G. (1993). Kidney-function in male and female rats chronically exposed to potassium dichromate. *Journal of Applied Toxicology*, 13, pp: 375-376.

Wagacha, J.M. y Muthomi, J.W. (2008). Mycotoxin problem in Africa: current status, implications to food safety and health and possible management strategies. *International Journal of Food Microbiology*, 124, pp: 1-12.

Wang, X., Zhou, L., Luo, F., Zhang, X., Sun, H., Yang, M., Lou, Z. y Chen, Z. (2018). 9, 10-Anthraquinone deposit in tea plantation might be one of the reasons for contamination in tea. *Food Chemistry*, 244, pp: 254-259.

Wang, D., Wang, X.H., Yu, X., Cao, F., Cai, X., Chen, P., Li, M., L. Feng. Y., Li, H. y Wang, X. (2021). Pharmacokinetics of Anthraquinones from Medicinal Plants. *Frontiers in Pharmacology*, 12, pp: 1-19.

Warth, B., Parich, A., Atehnkeng, J., Bandyopadhyay, R., Schuhmacher, R., Sulyok, M. y Krska, R. (2012). Quantitation of mycotoxins in food and feed from Burkina Faso and Mozambique using a modern LC-MS/MS multitoxin method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, pp: 9352-9363.

Wen, J.G., Li, Z.Z., Zhang, H., Wang, Y., Zhang, R.F., Yang, L., Chen, Y., Wang, J.X. y Zhang, S.J. (2010). Melamine related bilateral renal calculi in 50 children: single center experience in clinical diagnosis and treatment. *Journal of Urology*, 4, pp: 1533-1537.

Wen, J.G., Liu, X.J., Wang, Z.M., Li, T.F. y Wahlqvist, M.L. (2016). Melamine-contaminated milk formula and its impact on children. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 4, pp: 697-705.

Westerhoff, P., Prapaipong, P., Shock, E. y Hillaireaud, A. (2007). Antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) plastic used for bottled drinking water. *Water Research*, 42 (3), pp: 551-556.

Wu, Y. y Zhang, Y. (2013). Analytical chemistry, toxicology, epidemiology and health impact assessment of melamine in infant formula: recent progress and developments. *Food and Chemical Toxicology*, 56, pp: 325-335.

Wu, L., Han, W., Chen, Y., Zhang, T., Liu, J., Zhong, S., Liu, H., Han, C., Zhang, Z., Liu, S. y Tang, L. (2018). Gender differences in the hepatotoxicity and toxicokinetics of emodin: the potential mechanisms mediated by UGT2B7 and MRP2. *Molecular Pharmaceutics*, 15, pp: 3931-3945.

Wu, Q., Xie, L. y Xu, H. (2018). Determination of toxigenic fungi and aflatoxins in nuts and dried fruits using imaging and spectroscopic techniques. *Food Chemistry*, 252, pp: 228-242.

Xie, G., Zheng, X., Qi, X., Cao, Y., Chi, Y., Su, M., Ni, Y., Qiu, Y., Liu, Y. y Li, H. (2010). Metabonomic evaluation of melamine-induced acute renal toxicity in rats. *Journal of Proteome Research*, 1, pp: 125-133.

Xu, S., Zhou, P., Li, H., Juhasz, A. y Cui, X. (2021). Leaching and In Vivo bioavailability of antimony in PET bottled beverages. *Environmental Science & Technology*, 55, pp: 15227-15235.

Yabe, K. y Nakajima, H. (2004). Enzyme reactions and genes in aflatoxin biosynthesis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64, pp: 745-755.

Yang, T., Huangfu, W.G. y Wu, Y.L. (2011). Melamine residues in eggs of laying hens exposed to melamine-contaminated feed. *Poultry Science*, 90, pp: 701-704.

Yang, X., Shi, Z. y Liu, L. (2015). Adsorption of Sb (III) from aqueous solution by QFGO particles in batch and fixed-bed systems. *Chemical Engineering Journal*, 260, pp: 444-453.

Yoshinari, T., Takeuchi, H., Kosugi, M., Taniguchi, M., Waki, M., Hashiguchi, S., Fujiyoshi, T., Shichinohe, Y., Nakajima, M., Ohnishi, T., Hara-Kudo, Y. y Sugita-Konichi, Y. (2019). Determination of sterigmatocystin in foods in Japan: method validation and occurrence data. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 36, pp: 1404-1410.

Yu, H.T. (2002). Environmental carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons: photochemistry and phototoxicity. *Journal of Environmental Science and Health: Part C*, 20, pp: 149-183.

Zaki, M.H., Shookhoff, H.B., Sterman, M. y Deramos, S. (1964). Astiban in Schistosomiasis mansoni: A controlled therapeutic trial in a nonendemic area. *American Journal of Tropical medicine and Hygiene*, 13, pp: 803-810.

Zamora, R. y Hidalgo, F.J. (2021). Formation of naphthoquinones and anthraquinones by carbonyl-hydroquinone/benzo quinone reactions: A potential route for the origin of 9, 10-anthraquinone in tea. *Food Chemistry*, 354: 129530, pp: 1-9.

Zastrow, L., Schwind, K.H., Schwägele, F. y Speer, K. (2019). Influence of Smoking and Barbecuing on the Contents of Anthraquinone (ATQ) and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Frankfurter-Type Sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67, pp: 13998-14004.

Zhang, Q.X., Yang, G.Y., Li, J.T., Li, W., Zhang, B. y Zhu, W. (2011). Melamine induces sperm DNA damage and abnormality, but not genetic toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 60, pp: 144-150.

Zhao, L.C., Liang, J., Li, W., Cheng, K.M., Xia, X., Deng, X. y Yang, G.L. (2011). The use of response surface methodology to optimize the ultrasound-assisted extraction of five anthraquinones from *Rheum palmatum* L. *Molecules*, 16, pp: 5928-5937.

Zhitkovich, A. (2005). Importance of Chromium-DNA adducts in mutagenicity and toxicity of chromium (VI). *Chemical Research in Toxicology*, 18, pp: 3-11.

Zhu, S.L., Li, J.H., Chen, L., Bao, Z.X., Zhang, L.J., Li, J.P., Chen, J.H. y Ji, K.M. (2009). Conservative management of pediatric nephrolithiasis caused by melamine-contaminated milk powder. *Pediatrics*, 6, pp: 1099-1102.

Zhu, H. y Kannan, K. (2019). Occurrence of melamine and its derivatives in breast milk from the united states and its implications for exposure in infants. *Environmental Science & Technology*, 53 (13), pp: 7859-7865.

Zoller, O., Brüschweiler, B.J., Magnin, R., Reinhard, H., Rhyn, P., Rupp, H., Zeltner, S. y Felleisen, R. (2016). Natural occurrence of bisphenol F in mustard. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 33, pp: 137-146.

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la prospección de peligros biológicos de interés en seguridad alimentaria en España (2)

Número de referencia: AESAN-2022-008

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 29 de junio de 2022

Grupo de trabajo

Carlos M. Franco Abuín (Coordinador), Carlos Alonso Calleja, Pablo Fernández Escámez, Victoria Moreno Arribas, Gloria Sánchez Moragas y Antonio Valero Díaz

Comité Científico

Carlos Alonso Calleja
Universidad de León

Carlos M. Franco Abuín
Universidade de Santiago de Compostela

Sonia Marín Sillué
Universitat de Lleida

Magdalena Rafecas Martínez
Universitat de Barcelona

Houda Berrada Ramdani
Universitat de València

Ángel Gil Izquierdo
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Francisco J. Morales Navas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

María del Carmen Recio Iglesias
Universitat de València

Irene Bretón Lesmes
Hospital Gregorio Marañón de Madrid

María José González Muñoz
Universidad de Alcalá de Henares

Victoria Moreno Arribas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Ana María Rivas Velasco
Universidad de Granada

Araceli Díaz Perales
Universidad Politécnica de Madrid

Isabel Hernando Hernando
Universitat Politècnica de València

Silvia Pichardo Sánchez
Universidad de Sevilla

Gloria Sánchez Moragas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Pablo Fernández Escámez
Universidad Politécnica de Cartagena

Esther López García
Universidad Autónoma de Madrid

María del Puy Portillo Baquedano
Universidad del País Vasco

Antonio Valero Díaz
Universidad de Córdoba

Secretario técnico
Vicente Calderón Pascual

Gestión técnica del informe AESAN: María Ángeles Carlos Chillerón

Resumen

En el presente informe se aborda la prospección sobre peligros biológicos que actualmente no se incluyen en los programas de control oficial en España en algún tipo de alimento y que pueden suponer un riesgo para la población. Se trata de un informe que completa y actualiza el realizado en 2018 por parte del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN, 2018). Se consignan, en primer lugar, una serie de bacterias que constituyen una importante causa de infecciones nosocomiales, debido al incremento del número de cepas multirresistentes de *Acinetobacter* spp., de *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. También se aborda el estudio de prevalencia y posible control de la presencia de *Bacillus cereus* y *Cronobacter* spp.

en harinas de cereales y otras y también la revisión de *Campylobacter jejuni* y/o *Campylobacter coli* en carnes, al margen de las carnes de ave, así como el estudio de *Escherichia coli* productor de toxinas Shiga. En estos dos últimos casos, se trata de agentes biológicos mucho más conocidos desde la óptica del control alimentario, si bien, en el caso de *Campylobacter* spp. existen medidas de control en carnes de ave, pero no en otro tipo de carnes como son la carne de vacuno o porcino y, en el caso de *E. coli* productores de toxinas Shiga, tampoco se ha abordado de forma específica el control de este tipo concreto de cepas patógenas en los alimentos. Finalmente, se ha señalado un peligro vírico como es la encefalitis vírica transmitida por garrapatas que puede ser transmitida a las personas por el consumo de leche cruda o productos lácteos crudos.

El estudio prospectivo arroja la necesidad de conocer la prevalencia de bacterias multirresistentes de *Acinetobacter baumannii, K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* en alimentos en España, sobre todo en alimentos listos para el consumo como pueden ser las ensaladas y alimentos frescos de origen vegetal. Esto es especialmente importante por la falta de datos de prevalencia de estas bacterias en alimentos en España, llevándose a cabo, sin embargo, investigaciones en alimentos en países de nuestro entorno. También se constata la necesidad de incluir a *C. jejuni* y/o *C. coli* en las investigaciones en carnes de vacuno y porcino, ya que la incidencia de estos patógenos de transmisión alimentaria en las personas no queda explicada únicamente por la presencia de estos agentes en carnes de ave, poniéndose de manifiesto su presencia en otros animales de abasto. Análogamente, en el caso de *E. coli* productor de toxinas Shiga se han podido constatar los brotes que ha habido en España en los últimos 25 años, lo cual aconseja su control en carnes de vacuno, leche cruda y verduras de hoja. En lo que se refiere a *Cronobacter* spp. y *B. cereus*, se puede demostrar la importancia de estos agentes, dada su supervivencia en materiales pulverulentos como las harinas de distintos orígenes, incluidos los cereales, si bien los brotes consignados no parecen indicar una alta prevalencia. Para el único peligro vírico señalado, cabe indicar que la gran dispersión de las garrapatas que pueden transmitir este virus, junto con el posible consumo de leche cruda, aconseja la investigación del mismo en productos lácteos crudos, aunque el estudio de la capacidad infectiva real de dicho virus no sea fácil de establecer con métodos analíticos sencillos. Con esta última salvedad, la investigación para el control de todos estos peligros biológicos en alimentos es posible, existiendo metodologías clásicas o avanzadas lo suficientemente robustas para cada caso.

Palabras clave

Acinetobacter, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus, Cronobacter* spp., *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Escherichia coli*, STEC, toxinas Shiga, encefalitis vírica, garrapatas, *Ixodes*, multirresistencias.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the prospection of biological hazards of interest in food safety in Spain (2)

Abstract

This report addresses the prospection of biological hazards for some types of food that may pose a risk to the population and that are not currently included in the official control programs in Spain. It completes and updates the 2018 report by the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN, 2018). A number of bacteria that are significant contributors to nosocomial infections due to the increase in the number of multi-resistant strains of *Acinetobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* are listed first. It is also addressed the study of the prevalence and possible control of *Bacillus cereus* and *Cronobacter* spp. presence in cereal flours and others, the revision of *Campylobacter jejuni* and/or *Campylobacter coli* in meats other than poultry, as well as the study of Shiga toxin-producing *Escherichia coli.* These latter two biological agents are much better known from the food control perspective, although there are control measures for *Campylobacter* spp. in poultry meat and not in other types of meat such as beef or pork and in the case of *E. coli,* producers of Shiga toxins, the control of this particular type of pathogenic strains in food has not been specifically addressed either. Finally, tick-borne viral encephalitis, which can be transmitted to humans through the consumption of raw milk or raw dairy products, has been indicated as a viral hazard.

The prospective study shows the need to determine the prevalence of multi-resistant bacteria of *Acinetobacter baumannii*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* in foods in Spain, especially in ready-to-eat foods such as salads and fresh plant-based foods. This is especially important due to the lack of data on the prevalence of these bacteria in foods in Spain. However, food research is carried out in neighbouring countries. It is also necessary to include *C. jejuni* and/or *C. coli* in the investigations of beef and pork, since the incidence of these foodborne pathogens in humans is not explained solely by the presence of these agents in poultry meat, being their presence in other animals for slaughter also evident. Similarly, outbreaks of Shiga toxin-producing *E. coli* have been reported in Spain over the last 25 years, which makes it advisable to control them in beef, raw milk and leafy vegetables. With regard to *Cronobacter* spp. and *B. cereus*, the importance of these agents can be demonstrated given their survival in powdery materials such as flours of different origins, including cereals, although the reported outbreaks do not seem to indicate a high prevalence. As regards the only viral hazard mentioned, it should be noted that the wide dispersion of the ticks that can transmit this virus, together with the potential consumption of raw milk, makes it advisable to investigate it in raw milk products. However, the study of the actual infective capacity of this virus is not easy to establish with simple analytical methods. With this last exception, research for controlling all these biological hazards in food is possible, with classical or advanced methodologies that are robust enough, available for each case.

Key words

Acinetobacter, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus, Cronobacter* spp., *Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, Escherichia coli*, STEC, Shiga toxin, viral encephalitis, ticks, *Ixodes*, multiresistance.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo) Franco, C.M. (Coordinador), Alonso, C., Fernández, P., Moreno, V., Sánchez, G. y Valero, A. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la prospección de peligros biológicos de interés en seguridad alimentaria en España (2). *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2022, 36, pp: 161-207.

1. Introducción

A lo largo de la cadena alimentaria pueden estar presentes, incorporarse o producirse distintos peligros de tipo biológico que pueden suponer un riesgo para el consumidor.

Los programas de control oficial tratan de garantizar la realización de controles de los peligros de interés en seguridad alimentaria en función del riesgo, pero solo afectan a aquellos parámetros con límites máximos fijados en determinados alimentos.

Sin embargo, existen otros peligros de interés en seguridad alimentaria para los que no existe una regulación específica o existe, pero solo en determinados alimentos, que pueden ser objeto de programas de prospección con el fin de obtener datos que, además de proteger al consumidor de una exposición puntual a un peligro, permitan realizar una evaluación del riesgo.

Además, la identificación de nuevos peligros para los que puede producirse una exposición significativa, o la evaluación del riesgo derivado de una exposición o susceptibilidad nuevas o incrementadas significativamente a un peligro conocido, es importante, no solo a efectos de un eventual control de estos peligros emergentes, sino también de promover la investigación y mejorar su conocimiento por parte de los consumidores y de la comunidad científica.

En este sentido, en 2018, el Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) publicó un primer informe sobre la prospección de peligros biológicos de interés en seguridad alimentaria en España (AESAN, 2018) en el cual se señalaban los siguientes:

- Virus de transmisión alimentaria: norovirus, virus de la Hepatitis A y virus de la Hepatitis E en moluscos bivalvos y vegetales frescos, y virus de la Hepatitis E en productos derivados de carne de cerdo.
- Bacterias: *Yersinia enterocolitica* en carne de porcino, *Vibrio parahaemolyticus* y V. *vulnificus* en productos de la pesca y moluscos bivalvos, *Escherichia coli* (patotipos no STEC) en vegetales frescos y *Clostridium difficile* en carne fresca.
- Parásitos: protozoos (*Toxoplasma* y *Cryptosporidium*) en carne fresca y vegetales frescos.

Con el fin de incorporar más peligros de interés a posibles estudios prospectivos, se solicita al Comité Científico que realice una nueva revisión de los peligros de mayor interés en seguridad alimentaria en España que no cuenten con una regulación específica, identificándolos y señalando aquellos alimentos o condiciones que, *a priori*, podrían implicar un mayor riesgo para el consumidor.

2. Peligros biológicos y alimentos propuestos

En el presente documento se consigna el estudio prospectivo de la documentación científica reciente sobre la presencia de ciertas bacterias que suelen conllevar múltiples determinantes de resistencia a antibióticos usualmente empleados en el tratamiento de procesos causados por dichas bacterias, como es el caso de *Acinetobacter baumanii*, otros *Acinetobacter* multirresistentes y *Klebsiella pneumoniae* multirresistentes en carne, leche y vegetales y/o ensaladas listas para el consumo, así como *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes en alimentos de origen vegetal. La presencia de *Bacillus cereus* y *Cronobacter* spp. en harinas. También el estudio de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en carnes de porcino y vacuno y otras carnes. También la presencia de

E. coli productores de toxinas Shiga en carnes de vacuno, leche cruda y verduras de hoja. Finalmente, como único peligro vírico, la encefalitis por garrapatas en leche cruda y productos lácteos no pasteurizados de cabra, oveja y vacuno.

3. *Acinetobacter* spp. multirresistente

3.1 Generalidades

El empleo de antimicrobianos tanto en personas como animales suele ser motivo de justificación del incremento, cada vez mayor, del número de bacterias multirresistentes. A pesar del creciente número de antimicrobianos que se pueden emplear en el tratamiento de las enfermedades en los últimos años, quizás ya en la última década del pasado siglo, se han ido "popularizando" ciertos microorganismos cuya denominación inicialmente no parece tener una connotación con enfermedades concretas en las personas. Una de estas bacterias es *Acinetobacter*. El género *Acinetobacter* fue inicialmente descrito en 1911 por Beijerinck (1911), siendo seguramente la especie más conocida e importante de este género *Acinetobacter baumannii*. Esta fue descrita en 1986 por Bouvet y Grimont (1986), si bien el género *Acinetobacter* comprende actualmente alrededor de 80 especies, aunque su asignación a nivel taxonómico es compleja. Un aspecto de la máxima relevancia de este agente es que, mientras en las últimas décadas del siglo pasado las cepas aisladas de *A. baumannii* eran en general sensibles a la mayoría de los agentes antimicrobianos, hoy en día cada vez es más frecuente aislar cepas multirresistentes, lo que supone una preocupación a nivel mundial. En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha señalado la resistencia antimicrobiana como uno de los tres problemas de mayor importancia para la salud de las personas (Bassetti et al., 2011).

3.2 Impacto de la enfermedad en las personas

El género *Acinetobacter* está compuesto por cocobacilos Gram negativos, aerobios estrictos, no fermentadores, inmóviles y oxidasa negativos. Las especies incluidas en el grupo de *A. baumanii* son las especies más frecuentemente relacionadas con infecciones nosocomiales en todo el mundo. De hecho, *A. baumannii* se recoge dentro del acrónimo ESKAPE que engloba a bacterias capaces de "escapar" de la acción de los antimicrobianos (Pendleton et al., 2013). En relación a las bacterias multirresistentes, *A. baumannii* se puede considerar un microorganismo paradigmático (Souli et al., 2008) y se ha relacionado su frecuente resistencia no sólo con cepas de origen clínico procedentes de pacientes humanos sino también de origen animal (Zhang et al., 2015) y de prácticas empleadas en ocasiones en producción de animales de abasto (Adeyemi et al., 2022). A este respecto también se menciona la transformación natural de estas bacterias para adquirir resistencia (Domingues et al., 2019) así como la participación de ciertas proteínas de membrana (Han et al., 2022). En las últimas décadas, la diseminación de cepas con multirresistencia de *A. baumannii* se ha traducido en una multiplicación de casos graves a nivel hospitalario que precisan de cuidados intensivos (Mc Connell et al., 2013). En las personas, puede causar neumonía, además, las mayores ratios de mortalidad por neumonía aparecen en enfermos con el uso de ventilación asistida, lo cual en los años de pandemia ha alcanzado un interés especial a causa del COVID 19, y su tratamiento con ventilación asistida en muchos casos de pacientes hospitalizados con neumonía. De hecho, es múltiple la bibliografía que

aborda los brotes hospitalarios de *A. baumannii* en pacientes con COVID (Wu et al., 2021) (Russo et al., 2022). Estas bacterias también causan bacteriemia, endocarditis, entre otras patologías, con la problemática de la supervivencia del agente en diverso material hospitalario y personal que se ha visto expuesto a este agente (Mc Connell et al., 2013), lo cual hace que se puedan desarrollar muchos casos a nivel hospitalario e incluso transferirse la bacteria de unos hospitales a otros. Dentro de los hospitales, el proceso puede ser tan severo que puede causar una mortalidad incluso superior al 60 % en pacientes con neumonía tratados con ventilación asistida e infectados con *A. baumannii* multirresistente (Ciginskiene et al., 2019).

El tratamiento de las infecciones con *A. baumannii* era sencillo en la década de los 70 del pasado siglo, aunque el rápido aumento de las resistencias ha hecho que dicho tratamiento vaya evolucionando. Los β-lactámicos carbapenémicos como el imipenem y el meropenem son antimicrobianos de elección en estas infecciones. Sin embargo, también se señala la colistina como antimicrobiano para el tratamiento de este agente (Asif et al., 2018). Se indica, en cualquier caso, la existencia de un alto porcentaje de cepas resistentes a los β-lactámicos carbapenémicos (CRAB, *Carbapenem Resistant Acinetobacter baumannii*), de tal modo que se proponen nuevas estrategias para el tratamiento, en concreto el empleo de tigeciclina (Isler et al., 2019) y minociclina (Nair, 2018) (Isler et al., 2019).

3.3 Prevalencia en alimentos

Si bien no está demostrada una transmisión específica de este tipo de agentes a partir de los alimentos, la presencia de estas bacterias en ellos supone un riesgo inherente para las personas. Esto viene determinado, por una parte, por el incremento del número de personas susceptibles a las infecciones con agentes oportunistas (immunosuprimidas, personas de edad avanzada, etc.) así como por la mayor facilidad para la distribución de estos agentes hacia los hospitales y aumentar la difusión de las resistencias hacia otros microorganismos. Sin embargo, sí que se ha documentado la transmisión de *A. baumannii* a través del agua de bebida (Umezawa et al., 2015).

Está claramente establecida la presencia de *A. baumannii* en diversos tipos de alimentos. Así, Guo et al. (2021) señalan que hasta un 4,52 % de las bacterias presentes en la leche pertenecen al género *Acinetobacter*, siendo *A. lwoffii* una de las tres especies más prevalentes en un estudio que analizó 355 muestras de leche de diversas regiones de China. Asimismo, se han encontrado bacterias del grupo *A. baumannii/calcoaceticus* en un total del 39,4 % de muestras de leche, yogur y queso en Brasil (Rabêlo et al., 2021). También han sido aislados *A. baumannii* en alimentos africanos tradicionales fermentados obtenidos de aceite de habas (Okorie et al., 2017). El desarrollo de la fermentación como elemento característico de muchos alimentos es clave en relación a la microbiota característica que poseen este tipo de productos (Abouelnaga et al., 2016). Resulta importante el hecho de que puedan aparecer estos agentes en alimentos fermentados dado el aumento del consumo de alimentos funcionales y suplementos con probióticos. En estos casos se trata de añadir microorganismos vivos que mejoren o repongan la funcionalidad del aparato digestivo de las personas y supongan una mejora nutricional y de salud (FAO/OMS, 2006). De este modo, resulta preocupante que algunos estudios (Mazzantini et al., 2021) han mostrado la contaminación de suplementos de esta naturaleza con *Acinetobacter* spp., señalándose recuentos de poblaciones

de *A. baumannii* por encima de 10^{11} por dosis de probiótico (Celandroni et al., 2019). Asimismo, *Acinetobacter* ha demostrado una capacidad para persistir en fórmulas infantiles pulverulentas (Juma et al., 2016), sobreviviendo a la desecación.

En relación con la prevalencia en carnes; se pueden encontrar estudios en carne cruda, en Suiza. Lupo et al. (2014) determinaron un 25 % de muestras de carne positivas a *A. baumannii* entre los meses de noviembre de 2012 y mayo de 2013; en este caso la carne de pollo fue la más frecuentemente contaminada con este agente. En Portugal se identificó en múltiples tipos de carnes (Carvalheira et al., 2017a), y se señala que *Acinetobacter* spp. fue aislado de todas las muestras de carnes incluidas en el estudio (pollo, pavo, vacuno y cerdo). Se identificaron 13 especies distintas, con una gran diversidad genética y un 18,7 % de prevalencia de las cepas pertenecientes al grupo de *A. baumannii,* el segundo grupo más prevalente sobre un total de 223 aislados. En Perú se aislaron también en carnes varias especies de *Acinetobacter* (Marí-Almirall et al., 2019). Investigadores chinos ponen de manifiesto también la gran prevalencia de agentes del género *Acinetobacter* en carne de cerdo en los primeros momentos tras refrigeración. Si bien esta prevalencia va disminuyendo al ir aumentando el período de refrigeración en favor de *Pseudomonas* (Wang et al., 2022a). En China también se investigó la presencia de este agente en *bacon* con valores, en este caso, más bajos, que suponen el 8,65 % (Wang et al., 2022b). *Acinetobacter* también ha sido aislado en productos frescos listos para el consumo o que no requieren un tratamiento culinario para ser consumidos como son componentes de ensaladas como la lechuga o frutas (Carvalheira et al., 2017b). En este caso *Acinetobacter* se aisló en un 77,9 % de las muestras, siendo un 11 % de las cepas aisladas del grupo *A. baumannii*. Finalmente, se puede señalar que *Acinetobacter* es un género ubícuo en el agua (Vaz-Moreira et al., 2017), habiéndose detectado asimismo en agua para consumo (Van Assche et al., 2019).

En pescado también se ha identificado *Acinetobacter*, tanto en España (González et al., 2000) como en otros países, en proporciones similares a las obtenidas para otros productos, e incluso se han determinado molecularmente cepas relacionadas con enfermedades en las personas (Houang et al., 2001).

Existía una evidencia de contaminación a nivel hospitalario de superficies, agua, etc. por esta bacteria. Sin embargo, también aparece contaminación por estos agentes en superficies de procesamiento de alimentos (Xu et al., 2022), lo cual justifica la enorme prevalencia que parece haber en todos los alimentos en general. Los estudios de prevalencia de los últimos años parecen mostrar resultados más consistentes probablemente a causa de la generalización de los estudios mediante técnicas basadas en secuenciación masiva de última generación. Sin embargo, con la excepción del estudio de González et al. (2000), no se encuentran resultados de prevalencia en alimentos en España para estas bacterias.

Es de resaltar el hecho de que, aunque es abundante el número de publicaciones que investigan *Acinetobacter* y *A. baumannii* en personas, animales o alimentos, en la inmensa mayoría de los casos no se dan valores cuantitativos de las poblaciones determinadas para estas bacterias, que parecen oscilar entre las 50 y 1000 UFC/g en datos obtenidos de alimentos vegetales (Berlau et al., 1999).

En la mayoría de los trabajos citados se señalan estudios de antibiorresistencia de las cepas de *Acinetobacter* o *A. baumanni* frente a diversos antimicrobianos. Sin embargo, los resultados

publicados no resultan suficientemente clarificadores. Se observó baja prevalencia de resistencia frente a antimicrobianos y la ausencia de multirresistencia (Marí-Almirall et al., 2019) en carne en Perú. En Suiza (Lupo et al., 2014) los aislados de *A. baumannii* obtenidos de la carne fueron en general susceptibles a antibióticos clínicamente relevantes sin observarse resistencias frente a antimicrobianos carbapenémicos. También se señala la existencia de resistencias frente a sulfametoxazol-trimetroprim, tetraciclina y aminoglucósidos, pero solo fueron detectadas resistencias frente al meropenem o imipenem (antimicrobianos carbapenémicos) de forma esporádica (Carvalheira et al., 2017a). Sin embargo, estos autores portugueses señalan que el 51,2 % de las cepas fueron consideradas como resistentes a varios antimicrobianos (MDR, *Multi Drug Resistance*) y el 9,6 % como resistentes de forma extensa a los antimicrobianos (XDR, *extensively drug resistance*), siendo para el grupo de *A. baumannii* el 38,7 % MDR.

3.4 Métodos de determinación

Los estudios de prevalencia más recientes se han llevado a cabo mediante el empleo de sistemas basados en secuenciación masiva (Guo et al., 2021), basando su identificación en secuencias del 16S rRNA. Esto no permite determinar aspectos como son la resistencia a lo antimicrobianos. Sin embargo, *A. baumannii* también fue aislado de alimentos mediante el empleo de diversos medios de cultivo dentro del contexto de lo que es la microbiología clásica como el medio modificado de Leeds para *Acinetobacter* (MLAM, *Modified Leeds Acinetobacter Medium*) que contiene vancomicina (Houang et al., 2001), o medios selectivos/cromogénicos para enterobacterias productoras de β-lactamasas de espectro extendido (Lupo et al., 2014). Quizás el medio de cultivo que más se emplea en su aislamiento es el CHROMagar™ *Acinetobacter*. Sin embargo, también se han aislado microorganismos de este género a partir de medios para el recuento y aislamiento de enterobacterias como el agar MacConkey (Marí-Almirall et al., 2019) o MacConkey adicionado con diversos antimicrobianos como la amoxicilina, cefradina y fosfomicina. Estos medios han sido comparados por Moran-Gilad et al. (2014). También se han propuesto medios de enriquecimiento para la investigación en alimentos dentro del contexto de la microbiología clásica (Carvalheira et al., 2016) como el medio de enriquecimiento de Baumann y el de Dijkshoorn. La identificación preliminar fenotípica es sencilla y la confirmación a nivel de especie mediante medios moleculares incluyendo genotipado mediante electroforesis en campo pulsante y o estudio de la secuencia del gen *rpoB* (902 pb) (Rafel et al., 2015) (Carvalheira et al., 2017a). También se han empleado otros métodos de identificación como el MALDI-TOF (Toh et al., 2015). La verificación de las resistencias en las cepas identificadas se puede hacer por medios fenotípicos, siguiendo las directrices del *Clinical and Laboratory Standards Institute*, CLSI (2012). Existen múltiples artículos en los que se referencian los genes responsables de las resistencias de *Acinetobacter* (Tavakol et al., 2018) (van der Kolk et al., 2019).

4. *Klebsiella pneumoniae* multirresistente

4.1 Generalidades

K. pneumoniae es otro de los agentes incluidos dentro del acrónimo ESKAPE. Se trata de una enterobacteria con una marcada capacidad para hacerse resistente a múltiples antimicrobianos, lo

cual sin duda es uno de los principales aspectos a tener en cuenta. Al igual que otras bacterias incluidas en el acrónimo ESKAPE, en la última década se ha multiplicado la prevalencia de procesos causados por este agente y la prevalencia asociada a cepas de *K. pneumoniae* multirresistentes a los antimicrobianos (Wyres et al., 2020).

K. pneumoniae es originalmente una enterobacteria de metabolismo fermentativo y, en este sentido, diferente de *Acinetobacter* spp.

4.2 Impacto de la enfermedad en las personas

Aunque clásicamente *K. pneumoniae* era considerada una bacteria causante de procesos pulmonares adquiridos de forma comunitaria (Ko et al., 2002). Hoy en día se presenta como una de las bacterias más importantes que causan procesos patológicos en las personas al margen de las neumonías, siendo normalmente a nivel extraintestinal y, al igual que los otros agentes incluidos dentro del acrónimo ESKAPE, uno de los principales agentes nosocomiales, es decir, causantes de infecciones a nivel hospitalario. Sin embargo, aunque las neumonías y/o procesos urinarios causadas por estas bacterias en el hospital son importantes, también hay un número importante de bacteremias adquiridas a nivel comunitario causadas por este agente (Meatherall et al., 2009).

Asimismo, ha sido puesto de manifiesto el hecho de que las personas portadoras de *K. pneumoniae* a nivel intestinal suponen un factor predisponente para la presentación de abscesos hepáticos en varios países de Asia (Hartantyo et al., 2020) y este agente ha sido identificado como agente etiológico en un 6 % de casos de abscesos hepáticos en algunos estudios en España (Barreiro, 2018). También se debe resaltar la incidencia en España de personas portadoras de microorganismos productores de β-lactamasas de amplio espectro, siendo *K. pneumoniae* uno de los microorganismos más frecuente, con un 20 % de las bacterias identificadas en el estudio (Díaz-Agero et al., 2019).

Al margen del hecho de la adquisición a nivel comunitario de este agente de procesos extraintestinales y a diferencia de otros agentes de importancia básicamente nosocomial, hemos de señalar que se ha informado de la adquisición de una variante enteroinvasiva de *K. pneumoniae* a partir del consumo de un producto cárnico (hamburguesa) (Sabota et al., 1998), siendo concordantes los aislados del agente a nivel del producto cárnico y a partir de la persona enferma. Sin embargo, a pesar de los años transcurridos, no se han confirmado otros casos similares desde entonces. En cualquier caso, aunque de forma indirecta en la mayoría de los casos, la bibliografía científica con frecuencia relaciona los alimentos como transmisores de este agente (Haryani et al., 2007) (Gundogan y Avci, 2013) (Peng et al., 2021) así como a los animales productores de carne (Davis y Price, 2016) (Projahn et al., 2019) (Aguilar-Bultet et al., 2020).

De todo lo anterior se desprende la existencia de neumonías clásicas de adquisición comunitaria y casos nosocomiales que incluyen neumonías y otros procesos y también casos comunitarios graves, para señalar finalmente la posible transmisión alimentaria. Los distintos casos señalados dependen, como se puede suponer, del tipo de cepa y más concretamente de la virulencia de esta. De este modo se pueden clasificar las cepas de este agente en varios grupos, unas serían las *K. pneumoniae* clásicas, y por otra parte tendríamos las cepas hipervirulentas, que son variantes invasivas responsables de los abscesos hepáticos y otros procesos de gravedad. En este último

caso se trata de bacterias con una importante batería de factores de virulencia que se pueden ver agravados con la adquisición de multirresistencia. Los procesos causados por las cepas clásicas suelen ser a nivel hospitalario, sin embargo, los causados por cepas hipervirulentas suelen ser originados a nivel comunitario y en el caso de los procesos por cepas hipervirulentas multirresistentes, el origen es tanto nosocomial como comunitario (Zhu et al., 2021). Estudios realizados sobre el origen de las múltiples resistencias a los antimicrobianos que presentan estos agentes confirman que la mayor parte de genes de resistencia frente a antimicrobianos de relevancia clínica son adquiridos horizontalmente (Wyres et al., 2020).

K. pneumoniae es naturalmente resistente a la ampicilina, pero también hay una gran cantidad de genes que contribuyen a la resistencia de esta bacteria frente a múltiples antimicrobianos. Se ha señalado asimismo que al igual que en el caso de *A. baumannii* la resistencia adquirida frente a los antimicrobianos carbapenémicos es de la mayor importancia y se ha relacionado con la posible transmisión a las personas a partir de alimentos vegetales frescos listos para el consumo (Soliman et al., 2021).

4.3 Prevalencia en alimentos

Tal y como hemos señalado, a pesar de la consideración de esta bacteria como agente causante de infecciones nosocomiales, son numerosas las publicaciones en las que se investiga su prevalencia en alimentos o bien se relaciona con la seguridad alimentaria. De este modo, en productos crudos y listos para el consumo se recuperó *K. pneumoniae* en el 21 % de las muestras investigadas en Singapur, con altos porcentajes de positividad, de hasta el 80 % en algunos grupos de muestras de alimentos crudos (vegetales) y porcentajes algo menores, pero que llegan al 27 %, en platos preparados listos para el consumo (Hartantyo et al., 2020). En China se ha hecho más investigación en alimentos. Se puede citar el trabajo de Guo et al. (2016), quienes determinaron una prevalencia del 9,9 % en muestras de alimentos contaminadas con *K. pneumoniae*, oscilando los valores entre el 7,5 % para muestras de productos del mar crudos congelados y el 13,8 % de muestras de pollo crudo fresco (Guo et al., 2016). Zhang et al. (2018) analizaron 1200 muestras de alimentos vendidos al por menor y listos para el consumo, incluidos vegetales y carnes en 24 ciudades de China. El 5 % de las muestras fueron positivas a *Klebsiella* spp. y realizaron además una caracterizaron fenotípica y genotípica de las cepas. En Malasia, el 32 % de las muestras de alimentos obtenidos de mercados callejeros fueron positivas a *K. pneumoniae* (Haryani et al., 2007). En Oklahoma, Estados Unidos, también se investigó la presencia de este agente y sus resistencias a los antimicrobianos en granjas de vacuno, pavos y pollos, así como en carnes de estos animales obtenidos de tiendas o supermercados. Más del 70 % de las muestras de carne de pavo fueron positivas a *K. pneumoniae* multirresistentes, con valores signficativamente más bajos para el caso de carnes de vacuno (15 %) y pollo (30 %) (Kim et al., 2005). En Costa de Marfil se ha estudiado la presencia de *K. pneumoniae* en restaurantes del campus universitario de Abiyán, así como su perfil de resistencias a diversos antimicrobianos, hallándose hasta un 20,8 % en muestras de sopa de pescado y un 37 % en muestras de pescado frito (Kone et al., 2022). La preocupación por este microorganismo también ha llegado a Europa, realizándose un estudio multicéntrico para poner a punto metodologías de detección de *Klebsiella* y también para estudiar la prevalencia en carnes de pollo

y ensaladas listas para el consumo (Rodrigues et al., 2022). Los resultados arrojaron valores de prevalencia de entre el 50 y 60 % en carne de pollo y entre el 20 y el 30 % en ensaladas, según se empleen métodos de cultivo convencionales o PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa, *Polymerase Chain Reaction*). Los países involucrados fueron Dinamarca, Irlanda, Italia, Francia y Austria. Estos valores, en comparación con los citados en China y otros países, se antojan relativamente altos, quizás también por la mejora de la metodología empleada. Si bien hay mucha información sobre caracterización de cepas de origen clínico en nuestro país, no hemos encontrado estudios específicos sobre la prevalencia de este microorganismo en alimentos en España.

4.4 Métodos para detectar *Klebsiella pneumoniae*

Ya datan del siglo pasado algunos métodos para la detección de *Klebsiella* spp. de forma selectiva (Bagley y Seidler, 1978). Pero en nuestro siglo, *K. pneumoniae* fue aislada a partir del empleo de medios de cultivo clásicos y bien conocidos y relativamente poco selectivos, como el agar MacConkey (Kim et al., 2005), llegando el empleo del agar MacConkey hasta hoy en día. Así, en el estudio llevado a cabo por Zhang et al. (2018), uno de los que analizan un mayor número de muestras de alimentos, emplearon caldo nutriente para enriquecer las muestras y posteriormente emplearon agar MacConkey para aislar este agente, aislando colonias de aspecto mucoide de color rosa, empleando posteriormente pruebas fenotípicas clásicas como el uso de *kits* API 20E de BioMerieux® también en el trabajo de Hartantyo et al. (2020). Otros medios de cultivo clásicos para enterobacterias también se han empleado para el aislamiento de estos agentes de alimentos como el agar eosina azul de metileno (Gundogan y Avci, 2013). Sin embargo, en la actualidad, dada la preocupación por la prevalencia de esta bacteria en alimentos en Europa, y la falta de una auténtica estandarización en los medios de cultivo y metodologías empleados, se han realizado estudios para definir métodos de cultivo óptimos para la recuperación de estas bacterias de alimentos, probando alimentos como carne de pollo y ensaladas listas para el consumo (Rodrigues et al., 2022). En este sentido se ha empleado como diluyente de enriquecimiento agua de peptona tamponada y caldo LB (caldo de lisogenia), suplementado con ampicilina. En este artículo se han estudiado también, para el aislamiento, medios de cultivo sólidos selectivos, incluyéndose medios comerciales cromogénicos como el comercializado por Sigma® o el comercializado por Liofilchem® y también medios no comerciales ya clásicos. El protocolo optimizado final incluye el empleo de agua de peptona tamponada, con incubación a dos temperaturas y el empleo de agar SCAI (no comercial) (van Kregten et al., 1984) (Passet y Brisse, 2015) para el aislamiento. *K. pneumoniae* aparece de color amarillo en agar SCAI. Sin embargo, los medios cromogénicos comerciales también obtienen buenos resultados, en general, en la distinción de *Klebsiella* spp. de otros géneros. Al margen de los sistemas basados en la microbiología clásica para el aislamiento y la posterior caracterización de estas bacterias, están disponibles métodos moleculares para la detección y caracterización de estas bacterias, como la detección de determinados genes (Zhang et al., 2018) o el empleo del MALDI-TOF para la identificación (Rodrigues et al., 2018).

Para la determinación de la antibiorresistencia se emplean clásicamente métodos fenotípicos mediante el uso del método de difusión en agar, así como la búsqueda de determinantes genéticos

concretos en función de la resistencia de interés (Hartantyo et al., 2020) (Rodrigues et al., 2022). La resistencia a los antimicrobianos carbapenémicos son del máximo interés.

5. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente

5.1 Información general

Pseudomonas spp. es un bacilo de entre 1,5 y 5 µm de longitud, y diámetro de entre 0,5 y 1 µm, Gram negativo, catalasa y oxidasa positivo, no fermentativo, capaz de colonizar diferentes ambientes debido a su gran capacidad de adaptación y desarrollo de rutas metabólicas (Capatina et al., 2022). Las bacterias no son formadoras de esporas y a pesar de ser aerobias estrictas, pueden metabolizar los nitratos como fuente alternativa de electrones, permitiéndoles crecer en anaerobiosis (Park y Sauer, 2021).

El género *Pseudomonas* abarca a numerosas especies, entre las que destaca *P. aeruginosa*, patógeno oportunista asociado a infecciones en animales y humanos. La proliferación de este microorganismo en ambientes húmedos y su crecimiento a bajas temperaturas, representa un problema a nivel hospitalario y alimentario. De hecho, la transmisión del patógeno puede estar asociada a la contaminación de material quirúrgico y soluciones acuosas incluyendo desinfectantes, jabones, o fluidos de irrigación y diálisis, dada su capacidad de formación de biofilms (Lanini et al., 2011). La bacteria puede presentar distintas variantes morfológicas como consecuencia de respuestas al estrés ambiental, o la adquisición de resistencias antimicrobianas. En los últimos años han surgido nuevas cepas que presentan una gran cantidad de factores de virulencia, asociados a la resistencia a varias familias de antibióticos. La capacidad infectiva no es tan dependiente del genotipo sino de las condiciones del huésped en el momento de la colonización (Valentini et al., 2018), estando asociadas las formas sésiles a infecciones crónicas y las planctónicas a las agudas.

La presencia de *P. aeruginosa* multirresistente en alimentos está asociada a leche cruda, carne o agua, pero el incremento en la prevalencia en alimentos de origen vegetal ha hecho aumentar su relevancia en el contexto de la salud pública. También se incluye dentro de las bacterias recogidas bajo el acrónimo ESKAPE a causa de las multirresistencias.

5.2 Factores ambientales de crecimiento

El crecimiento de *Pseudomonas* spp. requiere un valor de actividad de agua superior a 0,95, mientras que valores de pH por debajo de 5,4 producen su inhibición. En relación con la temperatura, algunas especies pueden crecer a temperaturas de refrigeración, siendo de carácter psicrófilo, mientras que otras pueden adaptarse y crecer a temperaturas superiores, de hasta 42 ºC (Wu y Li, 2015). *P. aeruginosa* es resistente a altas concentraciones de sal y colorantes, así como a un amplio espectro de antibióticos en concentraciones moderadas. Cabe destacar que *P. aeruginosa* es capaz de desarrollarse en presencia de concentraciones escasas de nutrientes, e incluso en medios como agua destilada (Mena y Gerba, 2009). Estas propiedades confieren al patógeno una mayor capacidad de supervivencia y adaptación en distintos ambientes, principalmente húmedos, promoviendo su naturaleza ubicua y la aparición de infecciones nosocomiales.

5.3 Factores de patogenicidad

P. aeruginosa presenta varios sistemas de comunicación bacteriana o *quorum sensing,* como *las* y *rhl*, que controlan la producción de distintos factores de virulencia, entre los que se incluyen elastasas (*las*B y *las*A), proteasa alcalina (*apr*A), rhamnolípidos que intervienen en síntesis de biosurfactantes (*rhl*AB), exotoxina A (*exo*A) con actividad ADP-ribosiltransferasa, cianuro de hidrógeno, superóxido dismutasa, etc. (Schaber et al., 2004).

En cuanto a la producción de toxinas, la más importante es la exotoxina A, que inhibe la síntesis proteica en células eucariotas una vez unida al receptor. Además, dicha toxina presenta actividad inmunodepresora (Michalska y Wolf, 2015). La destrucción tisular está promovida por ciertas enzimas como las elastasas que hidrolizan numerosas proteínas del hospedador como la elastina, la laminina, el fibrinógeno, el colágeno, entre otras (van der Plas et al., 2016).

La patogenicidad de *P. aeruginosa* viene dada por el Sistema de Secreción Tipo III (T3SS) a través del cual se producen varios factores de virulencia en el citoplasma de las células del hospedador (Hausser, 2009). Dicho sistema está modulado por las respuestas ambientales, como la disminución de Ca^{2+} o el contacto con superficies de células eucariotas.

La capacidad de formación de biofilm constituye en sí misma un factor de virulencia, asociado a la resistencia a antimicrobianos, originando infecciones difíciles de tratar. No obstante, P. *aeruginosa* suele afectar a tejidos dañados en pacientes con un sistema inmunológico debilitado, por lo que raramente se presentan infecciones en individuos sanos.

5.4 Síntomas asociados y tratamiento

La aparición de cepas multirresistentes de *P. aeruginosa* ha estado asociada a un mayor impacto en la transmisión de infecciones hospitalarias, siendo su frecuencia alrededor del 8 % (EPINE, 2019). Las resistencias bacterianas a los antipsedomónicos conocidos, incluidos los carbapenémicos con actividad frente a *Pseudomonas* spp. (imipenem, meropenem y doripenem) ha hecho más difícil adecuar un tratamiento dirigido frente a la infección, haciendo que la mortalidad ascienda a tasas de entre el 35 y el 70 %, según la localización de la infección, pronóstico de la enfermedad base, gravedad clínica inicial y tratamiento antibiótico (van Loon et al., 2018). La elevada morbimortalidad se presenta en pacientes inmunodeprimidos, siendo además la causa más frecuente de infección respiratoria crónica en pacientes con fibrosis quística. Las infecciones nosocomiales incluyen generalmente neumonías, bacteriemias, infección de heridas quirúrgicas e infecciones de vías urinarias (Kerr y Snelling, 2009) (Sordé et al., 2011). Los principales factores de riesgo asociados al desarrollo de *P. aeruginosa* multirresistente están asociados a la edad avanzada, a la ventilación mecánica, la traqueostomía, y el uso previo de carbapenémicos (Cezario et al., 2009). El tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa* resistente debe incluir antimicrobianos, seleccionados según el antibiograma. La administración de colistina, la cual genera escasas resistencias cruzadas frente a otros agentes antipseudomónicos, junto con tratamientos combinados de antibióticos (betalactámicos y aminoglucósidos) parecen ser las mejores alternativas para el tratamiento de las infecciones, aunque no existen aún estudios sólidos que avalen una reducción de la mortalidad debida a dichos tratamientos (Peña et al., 2013).

5.5 Datos epidemiológicos y de prevalencia

Debido a su amplio reservorio y origen ambiental, *Pseudomonas* spp. puede estar presente en alimentos de origen vegetal, ya que las principales fuentes de contaminación proceden del agua y el suelo (Kominos et al., 1972). De hecho, el género puede comprender hasta un 40 % de la microbiota natural presente en la superficie de frutas y vegetales, causando aproximadamente un 50 % de pérdidas de productos almacenados en refrigeración durante el periodo post-cosecha.

A pesar de que no se considera uno de los principales patógenos alimentarios, existen estudios que reportan información sobre resistencias antimicrobianas de hasta 401 aislados de *Pseudomonas* spp., principalmente *P. aeruginosa*. A través de métodos de microdilución y de concentración mínima inhibitoria, un estudio identificó una tasa de resistencia significativa a los aminoglucósidos en aislado de *Pseudomonas* spp. procedentes de vegetales y ensaladas (Schwaiger et al., 2011). En ese estudio se observó resistencia a los principales antibióticos de origen clínico como gentamicina, tobramicina, amikacina, ciprofloxacino, colistina, piperacilina, ceftazidima, o cilastatina. A través de los límites establecidos por la escala CLSI (2012) y métodos de difusión en disco, se observó además resistencias a los carbapenémicos en aislados procedentes de lechuga, coliflor, zanahoria, pimiento, pepino y tomate (Allydice-Francis y Brown, 2012). En otro estudio realizado en Portugal se aislaron un total de 35 muestras positivas para *Pseudomonas* spp. multirresistente en lechuga, tomate y zanahoria (Jones-Días et al., 2016). Aparentemente, la contaminación por *P. aeruginosa* en alimentos procesados de origen vegetal procede de la materia prima en mayor medida que durante la elaboración, como demostraron Wright et al. (1976) donde aislaron un 44 % de muestras positivas para *P. aeruginosa* en ensaladas servidas en la cocina de un hospital. De igual forma, Correa et al. (1991) obtuvieron un total de 38 y 98 aislados procedentes de muestras de ensaladas y muestras clínicas, respectivamente, en un hospital de Brasil, y más de un 50 % de las muestras presentaron recuentos superiores a 100 UFC/g. En un estudio más reciente (Ruiz-Roldán et al., 2021) se obtuvo una prevalencia de un 53,1 % de muestras positivas para *Pseudomonas* spp. en vegetales crudos, clasificándose en 139 pulsotipos. A partir de los aislados, se recuperaron un total de 37 cepas de *P. aeruginosa*, distinguiéndose un total de 28 secuencias y 9 serotipos. Los autores demostraron que los aislados presentaron, en mayor parte, rasgos asociados a factores de virulencia, por lo que su patogenicidad se considera altamente relevante.

5.6 Metodologías para la detección

La rápida y correcta identificación de *P. aeruginosa* es crítica en muestras de origen clínico, de forma que puedan desarrollarse los tratamientos más adecuados para la prevención y erradicación de la infección. Su identificación en el laboratorio y la determinación de su sensibilidad a los antimicrobianos no suelen plantear dificultades, con la excepción de los fenotipos mucosos que suelen identificarse en pacientes con fibrosis quística. De acuerdo con la legislación comunitaria y las directrices del *Codex Alimentarius*, *P. aeruginosa* debe estar ausente en muestras de agua y alimentos (Tang et al., 2017). Para la detección es necesario poner a punto métodos que determinen la presencia de células en medios planctónicos, así como en forma de biofilms. Además de los métodos tradicionales de enumeración y detección, se han desarrollados métodos de detección y

confirmación molecular, inmunológicos, ópticos y electroquímicos, a través de la presencia directa o indirecta de *P. aeruginosa* a través de metabolitos o moléculas de señalización.

Las técnicas dependientes de cultivo, entre las que se encuentra el método ISO para la detección y enumeración de *P. aeruginosa* en aguas (ISO, 2008), incluyen la utilización de agares selectivos para aislamiento de *Pseudomonas* spp. con triclosán (PIA) o cetrimida (PCN). La producción de piocianina se suele determinar en diversos agares cromogénicos, pero presentan el inconveniente de la baja selectividad, ya que solo el 90-95 % de las especies de *P. aeruginosa* lo producen (Weiser et al., 2014). Las temperaturas de incubación varían en función de la sensibilidad y selectividad del medio utilizado, siendo superior a 42 ºC, mientras que para otros medios cromogénicos los resultados son más fiables a 37 ºC. Habitualmente los periodos de incubación oscilan entre 2-5 días en condiciones de aerobiosis. Sin embargo, las células formadoras de biofilm en capas profundas requieren condiciones de anaerobiosis, siendo en muchas ocasiones no detectadas por estos medios de cultivo (Thi et al., 2020).

Las técnicas moleculares, a pesar de su alto coste, presentan una mayor fiabilidad para la detección de *P. aeruginosa.* Estas incluyen los métodos por PCR (RT-qPCR y M-CPR), que son capaces de detectar secuencias de ADN, así como el 16S rARN, y genes asociados (*oprI*, *oprL*, *algD*, *gyrB*, *ecfX*, *fliC*, *toxA*, *rrl*, *rrs* y *ETA*) (Thi et al., 2020). En los últimos años se han desarrollado métodos de amplificación isoterma como la reacción en espiral de la polimerasa (PSR) o el método LAMP (*Loop Mediated Isothermal Amplification*), que presenta un menor coste de reactivos y equipamiento (Zhang et al., 2013) a pesar de su complejo diseño e interpretación de los resultados.

Las técnicas de inmunoensayo incluyen la detección selectiva de la unión antígeno-anticuerpo, y habitualmente presentan una alta sensibilidad y bajo coste. Se han utilizado diversas moléculas que actúan como antígeno para la detección de *P. aeruginosa* tales como la exotoxina A, elastasa, y proteasa alcalina, así como la proteína F (OprF) y el antígeno comercial St-Ag:1-17. Entre las principales técnicas de inmunoensayo destacan los ensayos de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA), ensayos inmunocromatográficos (ICA), métodos de inmunofluorescencia, inmunoelectroforesis o inmunoblot, entre otros (Tang et al., 2017).

La detección de células de *P. aeruginosa*, así como de otros patógenos, está siendo optimizada a través del desarrollo de biosensores ópticos, electroquímicos o piezoeléctricos. Estos biosensores son dispositivos analíticos que incorporan un material biológico y/o biomoléculas (tejidos, microorganismos, organelos celulares, enzimas, anticuerpos, antígenos, ácidos nucleicos, proteínas, aptámeros, compuestos biomiméticos, catalizadores sintéticos, biomoléculas conjugadas y polímeros impresos, entre otros) asociados o integrados en un transductor fisicoquímico o sistema de transducción (Lazcka et al., 2007). La puesta a punto de biosensores electroquímicos se antoja la opción más viable para el diseño de dispositivos *Point of Care* (POC) que puedan monitorizar la presencia de *P. aeruginosa* en muestras de origen alimentario y ambiental (Ciui et al., 2017).

6. *Bacillus cereus*

6.1 Información general

B. cereus es un microorganismo esporulado Gram positivo que pertenece al género *Bacillus* y que

se ha clasificado como un grupo independiente. Este grupo (*B. cereus sensu lato*) está integrado por ocho especies reconocidas formalmente: *B. cereus sensu stricto* (o simplemente *B. cereus*), *B. anthracis, B. thuringiensis, B. weihenstephanensis, B. mycoides, B. pseudomycoides, B. cytotoxicus* y *B. toyonensis* (Oren y Garrity, 2014). Algunas especies de este grupo pueden causar enfermedades alimentarias o clínicas, mientras que otros no parecen ser patógenos. *B. cereus sensu stricto* se relaciona con toxiinfecciones alimentarias y es un importante contaminante de alimentos por su amplia y frecuente distribución en la naturaleza y en la cadena alimentaria.

6.2 Prevalencia

B. cereus está ampliamente distribuido en la naturaleza, por lo que se puede identificar en todo tipo de alimentos. El aumento, en los últimos años, de la producción y uso de harinas de distintos cereales y de insectos, para su incorporación a alimentos, hace necesario evaluar los riesgos biológicos que pueden estar presentes.

Diferentes estudios han evidenciado su presencia en distintos tipos de harinas. En relación a las de insecto, por ejemplo, Grabowski y Klein (2017) identificaron *B. cereus* en insectos desecados o en polvo, con recuentos de *Bacillus* spp. en torno a 3,0 $\log_{10}$ UFC/g. En un estudio en mosca soldado, que presenta gran interés por su valor nutritivo, *B. cereus* se identificó, junto a otros patógenos alimentarios (Raimondi et al., 2020). Se alcanzaron recuentos de *Bacillus* spp. de 2,3-3,2 $\log_{10}$ UFC/g. En otra investigación en el mismo insecto se identificaron los patógenos alimentarios *Salmonella* y *B. cereus* en muestras de larvas y/o residuos (Wynants et al., 2019)

También Walia et al. (2018) realizaron una evaluación de riesgos cualitativa de polvo de grillo, en el que *B. cereus* se consideró como uno de los posibles riesgos biológicos.

Tratamientos como la fermentación láctica o el uso de compuestos como nitrito sódico y lactato sódico en las muestras del gusano de la harina procesadas con ellos dieron lugar a que *Bacillus cereus*, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* estuvieran por debajo del límite de detección (Borremans et al., 2020).

En general, los estudios coinciden en recomendar que, dado que existe el riesgo de contaminación por *B. cereus* en estos productos, se aplique un tratamiento adecuado de descontaminación (por calor u otra tecnología) para garantizar la inocuidad de harinas de insecto antes de su incorporación a alimentos para consumo humano.

6.3 Brotes asociados

En 2019 se detectaron un total de 155 brotes de toxiinfección causados por este agente en Europa, de los que 7 personas afectadas fallecieron (EFSA/ECDC, 2021a). Un total de 10 países europeos notificaron brotes, entre los que se encontraba España. Cabe resaltar el importante aumento en la tasa de mortalidad respecto al año anterior (de 1 a 7 personas, respectivamente).

En el RASFF (*Rapid Alert System Feed and Food*) se han notificado numerosas alertas por *B. cereus* en distintos productos en los últimos años. Entre ellos se encontraban barritas elaboradas con proteína de insectos, escorpiones cocinados, una bebida de avena (con 29 personas con sintomatología), semillas de sésamo, polvo de hierba de cebada y diferentes especias.

6.4 Síntomas asociados

Se han descrito brotes asociados a distintos tipos de harina, lo que es especialmente preocupante cuando se destinan a alimentación infantil. Dada la pequeña proporción de alimentos que incorporan harinas de insectos, no se ha descrito aún ningún brote de toxiinfección por *B. cereus* asociado a su consumo. La sintomatología esperable sería la misma que la de los brotes asociados a otros alimentos.

6.5 Metodologías para la detección

Los métodos clásicos incluyen crecimiento en medios selectivos (manitol, yema de huevo y polimixina, MYP; y agar suplementado con NaCl y glicina, NGKG), tinciones de Gram y tests de esporulación, y métodos bioquímicos (galerías tipo API).

Los métodos moleculares incluyen PCR, qPCR y RT-qPCR para el tipado molecular de los miembros del grupo, basados en las regiones variables 16S y 23S del rRNA (Oliwa-Stasiak et al., 2010). Los resultados muestran que hay un elevado grado de homología en las secuencias entre las cepas, por lo que los métodos no han permitido una diferenciación exacta entre las diferentes especies de *B. cereus* incluidas en el grupo (EFSA, 2016). También existen diferentes técnicas para la identificación de las enterotoxinas producidas por *B. cereus*.

La diferenciación entre *B. cereus sensu stricto* y *B. thuringiensis* se basa en aspectos fenotípicos microscópicos que no son siempre concluyentes, por lo que la única forma de reconocer si una cepa pertenece a la especie. *B. thuringiensis* es identificarla mediante WGS (EFSA, 2016) y puede suponer una limitación para la detección inequívoca de *B. cereus sensu stricto* en alimentos.

7. *Cronobacter spp.*

7.1 Información general

El género *Cronobacter* spp. es un patógeno emergente y su estudio presenta un interés creciente. En 2002, la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF, 2002) definió a *Cronobacter* spp. como "riesgo severo para una población restringida, que representa una amenaza de muerte o secuelas crónicas de larga duración".

Se ha prestado considerable atención a las infecciones por *Cronobacter* spp. de los recién nacidos. A partir de 1961, *Cronobacter* spp. se notificó por primera vez en bebés hospitalizados en el Reino Unido; en 1979, se notificaron casos de bacteriemia por *Cronobacter* spp. entre recién nacidos en Macon (Estados Unidos) y en años posteriores se notificaron más infecciones por *Cronobacter* spp. en los Países Bajos (1983, 1987), Grecia (1987), Islandia (1989) y los Estados Unidos (1989 y 2001). En 2001, un grupo de investigadores, en relación con el estudio de infecciones por *Cronobacter* spp., permitió que el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos realizara una investigación de rastreo que identificó la Fórmula Infantil en Polvo (FIP) contaminada como una fuente importante de infecciones infantiles (Strysko et al., 2020).

A pesar de la atención prestada a los casos infantiles, *Cronobacter* spp. también puede infectar a personas de todas las edades. Las infecciones por *Cronobacter* spp. en adultos provocan síntomas gastrointestinales leves, diarrea e infecciones del tracto urinario. Los ancianos (Alsonosi et al., 2015) y los adultos inmunocomprometidos son los más susceptibles a estos agentes.

La OMS recomienda la leche materna como el mejor alimento para los lactantes y son reconocidos sus prometedores beneficios para la salud (Boué et al., 2015) (OMS, 2022). Sin embargo, los lactantes y recién nacidos que no pueden ser amamantados por razones inevitables son alimentados con FIP reconstituida que se considera una alternativa equivalente a la leche materna (Barron y Forsythe, 2007) (Kent et al., 2015). En este sentido, la calidad y la seguridad de las FIP presentan un desafío importante para los fabricantes de alimentos y deben satisfacer los criterios microbiológicos internacionales del "Código de prácticas de higiene para fórmulas en polvo para lactantes y niños pequeños (CAC/RCP 66-2008)". Aunque la FIP es un producto deshidratado con una actividad de agua reducida, siendo un medio desfavorable para el crecimiento de la mayoría de los microorganismos, todavía hay varios casos en los que se ha informado que la PIF reconstituida contaminada está implicada en diversas infecciones de *Cronobacter sakazakii* en bebés y recién nacidos (Lepuschitz et al., 2019) (Elkhawaga et al., 2020).

Como se ha comentado anteriormente, la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF, 2002) ha descrito a *C. sakazakii* (hoy en día género *Cronobacter*) como un "peligro grave para poblaciones restringidas, potencialmente mortal o con secuelas crónicas sustanciales de larga duración". El agente se vincula especialmente con FIP y lactantes y recién nacidos. Debido a la gravedad de las infecciones causadas por *C. sakazakii*, es fundamental desarrollar medidas de control rigurosas para reducir los riesgos de contaminación en cada paso durante la producción de PIF reconstituidas siguiendo las pautas y recomendaciones establecidas por las autoridades competentes en seguridad alimentaria (Lehner et al., 2018).

En el Reglamento de Criterios Microbiológicos de la Unión Europea (Reglamento Nº 2073/2005) se incluye *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) como sujeto a Criterio de Seguridad Alimentaria en "Preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes de menos de 6 meses" con un Plan de Muestreo de n= 30, c= 0, límites m y M de ausencia en 10 g y con el método analítico de referencia (ISO, 2017a).

7.2 Características generales e impacto

Cronobacter spp. es un género de bacterias Gram negativas que forma parte de las enterobacterias, encontrándose de forma natural en la naturaleza (suelo, agua, vegetales y animales), aunque en muchos casos se desconoce el reservorio.

Su capacidad para formar biofilms y su resistencia a la desecación, en comparación con otras enterobacterias, hace que sobreviva durante largos periodos de tiempo (hasta 2 años) en ambientes secos, como la leche en polvo y su entorno de producción. Una vez que los preparados se reconstituyen, *Cronobacter* spp. se multiplica dependiendo de las condiciones de preparación y almacenamiento.

Cronobacter spp. (anteriormente *E. sakazakii*) es un grupo importante de patógenos oportunistas emergentes transmitidos por los alimentos. Las infecciones graves por *Cronobacter* spp. en lactantes pueden provocar enterocolitis necrosante, bacteriemia (septicemia) y meningitis, con complicaciones a largo plazo para quienes sobreviven, como retraso en el desarrollo neurológico, hidrocefalia y daño neurológico permanente (Holý y Forsythe, 2014). Los lactantes con bajo peso al nacer o inmunocom-

prometidos tienen un riesgo particular de contraer infecciones causadas por este patógeno (Hunter y Bean, 2013). Además, la tasa de mortalidad de la meningitis relacionada con *Cronobacter* spp. puede ser de hasta 40 a 80 % (Friedemann, 2009). Sin embargo, la epidemiología y tasas de infección por *Cronobacter* spp. no siempre están totalmente clarificadas y, por lo general, solo se notifican anualmente de 4 a 6 casos de dichas infecciones en bebés a los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC, 2022). La mayoría de las infecciones por *Cronobacter* spp. se producen en la población adulta, especialmente en personas inmunocomprometidas, ancianos y en aquellos con implantes médicos, visitas prolongadas al hospital o enfermedades agudas, crónicas o graves (Patrick et al., 2014) (Alsonosi et al., 2015).

El género bacteriano *Cronobacter* se conocía anteriormente como *E. sakazakii* y se definió por primera vez como un nuevo género en 2007 (Iversen et al., 2007). Es un miembro de la familia *Enterobacteriaceae* y está estrechamente relacionado con los géneros *Enterobacter* y *Citrobacter*. En los últimos años, el género *Cronobacter* ha sido objeto de una serie de revisiones y actualmente hay autores que consideran que contiene 10 especies (Joseph et al., 2012) (Brady et al., 2013). Las siguientes fueron las especies formalmente reconocidas: *C. sakazakii, C. muytjensii, C. dublinensis, C. universalis, C. turicensis, C. condimenti, C. malonaticus, C. helveticus, C. pulveris* y *C. zurichensis*, incluidas las antiguas especies descritas *E. sakazakii, E. helveticus, E. pulveris* y *E. turicensis* (Holý y Forsythe, 2014), lo que dificulta determinar las especies concretas de *Cronobacter* spp. que se notificaron antes de las publicaciones científicas de 2007. Holý y Forsythe (2014) clasificaron *Cronobacter* spp. en dos grupos principales: el Grupo 1, que comprende *C. sakazakii* y *C. malonaticus*, que provienen principalmente de muestras clínicas, y el Grupo 2, que comprende *C. turicensis* y *C. universalis* con una menor frecuencia notificada. *Cronobacter* spp. son bacterias ubicuas según lo descrito por Cawthorn et al. (2008) y El-Sharoud et al. (2009) debido a que el patógeno ha sido aislado de muestras clínicas, alimentos (FIP, alimentos listos para el consumo), bebidas, agua, carne, verduras e incluso queso (Beuchat et al., 2009) (El-Sharoud et al., 2009). La incidencia de *Cronobacter* spp. en estas matrices alimentarias y la posible contaminación doméstica aumentan los riesgos potenciales de infecciones en adultos inmunocomprometidos, tal como afirman Baumgartner et al. (2009). La fórmula FIP es, hasta ahora, la única fuente de alimento que ha sido claramente vinculada epidemiológicamente a brotes causados por *Cronobacter* spp. En los países desarrollados, gran parte de la investigación sobre *Cronobacter* spp. se ha centrado en la posible presencia de estos patógenos en las materias primas de FIP (El-Sharoud et al., 2009), las instalaciones de procesado (Mullane et al., 2007) (Proudy et al., 2008) y los productos finales (Mullane et al., 2008).

Sin embargo, muchos estudios taxonómicos señalan únicamente 7 especies diferentes bajo el género *Cronobacter* (anteriormente *E. sakazakii*), a saber, *C. sakazakii, C. malonaticus, C. turicensis, C. muytjensii, C. dublinensis, C. universalis* y *C. condimenti* (Iversen et al., 2007, 2008) (Joseph et al., 2012) (Stephan et al., 2014). Siendo *C. sakazakii* el aislamiento clínico más frecuente del género *Cronobacter* spp. entre todos los grupos de edad, perteneciendo al considerado Grupo 1 (Forsythe, 2018). Junto con *C. malonaticus* y *C. turicensis*, también se la conoce como la especie más patógena que causa meningitis, sepsis y enterocolitis necrosante (ECN) en recién nacidos y lactantes (Patrick et al., 2014) (Alsonosi et al., 2015) (Finkelstein et al., 2019).

Un trabajo muy interesante es el realizado por Odeyemi y Sani (2019) en Malasia. Consideran que hay estudios muy limitados de este patógeno en dicha parte del mundo. Por lo tanto, los estudios sobre la incidencia, virulencia y resistencia a los antibióticos de *Cronobacter* spp. son imperativos. Este estudio tuvo como objetivo investigar la resistencia a los antibióticos, los presuntos factores de virulencia y la morfología de colonias multicelulares entre *C. sakazakii* aislado previamente en Malasia y comparado con cepas de referencia.

Este estudio tuvo como objetivo investigar los presuntos factores de virulencia a nivel fenotípico y la resistencia a antibióticos en *C. sakazakii* aislado de FIP y otras fuentes. Se utilizaron 9 cultivos (denominados CR1-9) cuya procedencia era de la colección de cultivos de los investigadores (*C. sakazakii*), y 3 especies de *Cronobacter* de colección: *C. sakazakii* ATCC® 29544™, *C. muytjensii* ATCC® 51329™, *C. turicensis* E866. Los aislados se sometieron a susceptibilidad a los antibióticos y a los siguientes factores de virulencia: proteasa, ADNasa, hemolisina, gelatinasa, motilidad y formación de biofilms, utilizando métodos fenotípicos. Todas las bacterias fueron capaces de formar biofilm en agar a 37 °C y fueron resistentes a ampicilina, eritromicina, fosfomicina y sulfametoxazol. Se observó, en este estudio, que las cepas probadas formaron un biofilm débil y, en ocasiones, fuerte, con morfotipos de colonia violeta seca y áspera (rdar), marrón seca y áspera (bdar), mucoide roja y lisa (rmas) en agar rojo Congo. rdar expresa *curli* (fibrillas amiloides) y *fimbriae*, mientras que bdar expresa *curli*. Ambos morfotipos de colonias formadoras de biofilm se encuentran comúnmente en *Enterobacteriaceae*, incluidas diversas cepas de *Salmonella* spp. Este estudio también revela nuevos morfotipos de colonias en especies de *Cronobacter* spp. En conclusión, hubo una correlación entre los presuntos factores de virulencia y la resistencia a los antibióticos entre las bacterias analizadas. Por lo tanto, se recomienda realizar más estudios sobre los genes de virulencia y resistencia a los antibióticos.

En 2004, Iversen et al. (2004) informaron sobre la capacidad de *Cronobacter* spp. para formar biofilms en varias superficies como vidrio, acero inoxidable, silicona, látex y policarbonato. Se observó que la unión de las células aparece rápidamente con respecto al plástico (un material hidrofóbico) y a los materiales hidrofílicos (Lehner et al., 2006). La disponibilidad de nutrientes y la temperatura del medio de crecimiento son factores importantes que influyen en la formación de biofilms (Kim et al., 2006). Se informó que más del 75 % de *Cronobacter* spp. produjo biofilm con leche infantil de fórmula, mientras que menos del 20 % produjo biofilm utilizando caldo de triptona de soja (TSB) diluido, cuando ambos se usaron como medio de cultivo (Oh et al., 2007). Más aún, la temperatura influye en la formación de biofilms. Kim et al. (2006) informaron que *Cronobacter* spp. no formaba biofilms a 12 °C en ninguno de los medios de crecimiento que se estudiaron. Según un estudio de Strydom et al. (2012), compuestos tales como D-galactosa, heteropolisacárido, D-glucosa, ácido glucurónico, D-fucosa y D-manosa incrementan la formación de biofilms de *Cronobacter* spp. (Strydom et al., 2012). Además, estos compuestos ayudan a incrementar la resistencia de estas bacterias a los antibióticos, detergentes y otras situaciones disgenésicas ambientales. Kim et al. (2007) informaron que la mayoría de los desinfectantes utilizados en las cocinas de establecimientos dedicados al servicio de alimentos, así como de hospitales y guarderías, no siempre son lo suficientemente efectivos para eliminar las células bacterianas atrapadas dentro de estas matrices orgánicas, por

lo tanto, la formación de biofilms en los equipos y en los entornos hospitalarios aumenta el riesgo de infecciones en bebés y niños, así como en adultos inmunocomprometidos. Se ha observado, en algún estudio, la formación de biofilms en la leche de fórmula infantil después de 24 horas en sondas de alimentación enteral, lo que aumenta el riesgo de infección neonatal, ya que este tipo de sondas pueden permanecer *in situ* durante varios días a temperatura corporal normal mientras se administran nutrientes a los lactantes en intervalos de 2 o 3 horas (Hurrell et al., 2009).

7.3 Datos epidemiológicos y prevalencia en alimentos

Las infecciones por *Cronobacter* spp. en lactantes se han relacionado epidemiológicamente con FIP contaminadas; al analizar un gran número de muestras de FIP para constatar la presencia de *Cronobacter* spp., se ha confirmado la existencia ocasional de este contaminante (Norberg et al., 2012) (Pei et al., 2016). Por lo tanto, la vigilancia de las FIP para detectar la presencia de *Cronobacter* spp. se ha convertido en una rutina para los fabricantes y los servicios de control alimentario. Como las fórmulas infantiles son productos que durante el proceso de elaboración sufren una pasteurización y *Cronobacter* spp. no puede sobrevivir a este tratamiento térmico (Iversen et al., 2004), la contaminación observada en los productos finales de FIP sugiere que las bacterias probablemente proceden del entorno de la fábrica o bien de micronutrientes sensibles al calor agregados después de la pasteurización. Además, la aparición de infecciones en individuos que no consumieron ni manipularon FIP, sugiere que el patógeno puede proceder del medio ambiente o de alimentos distintos al FIP (Patrick et al., 2014) (Alsonosi et al., 2015). De hecho, se han realizado investigaciones sobre la presencia de especies de *Cronobacter* spp. en alimentos deshidratados pulverulentos que no son preparados para lactantes, como material vegetal y otras fuentes deshidratadas (Sani y Odeyemi, 2015). Además, las FIP también pueden contaminarse en el entorno doméstico o en cualquier otro lugar después de abrir el recipiente. En varias investigaciones de brotes o casos de infección por *Cronobacter* spp. en bebés prematuros y recién nacidos, el microorganismo se aisló de licuadoras, cepillos para limpiar biberones y envases abiertos de FIP (Kandhai et al., 2004) (Friedemann, 2009).

Cronobacter spp. se puede aislar de una amplia gama de alimentos y entornos. Las investigaciones de *Cronobacter* spp. aislado de los alimentos han incluido, además de estudios sobre FIP o deshidratadas (Norberg et al., 2012) (Gicova et al., 2014), también otros en harina (Cetinkaya et al., 2013), alimentos secos en polvo, cereales, productos de cereales (Brandao et al., 2017), especias (Li et al., 2017), hierbas (Jaradat et al., 2009) (Garbowska et al., 2015), verduras (Chen et al., 2016) (Berthold-Pluta et al., 2017), alimentos listos para el consumo (Vasconcellos et al., 2018), y diversos alimentos de origen animal (Sani y Odeyemi, 2015). También se han realizado muestreos ambientales como ya se ha indicado anteriormente en el entorno de producción de FIP (Sani y Odeyemi, 2015), el entorno doméstico (Jaradat et al., 2009) y las granjas (Vojkovska et al., 2016); confirmándose la distribución ubicua del microorganismo y que la mayoría de los aislados de *Cronobacter* spp. en todo el mundo se originan de fuentes vegetales (Chen et al., 2016). Sin embargo, las características ecológicas de dicho agente microbiano son poco conocidas y se precisan estudios amplios y en profundidad de los hábitats de *Cronobacter* spp. para identificar la aparición y las características de estos patógenos presentes en las diversas categorías de alimentos y los diversos entornos en los que pueden identificarse.

Varios estudios han demostrado que la mayoría de los aislamientos de *Cronobacter* spp. en todo el mundo se originan a partir de fuentes vegetales (Sani y Odeyemi, 2015) (Chen et al., 2016). También se ha informado que un número relativamente alto de cereales dan positivo para *Cronobacter* spp. (Friedemann, 2007) (Brandao et al., 2017). El trigo y el arroz son alimentos básicos de gran importancia mundial, considerándose el arroz un alimento primordial en la dieta de una gran parte de la población mundial. Lou et al. (2019) estudiaron, en China continental, la presencia de *Cronobacter* spp. en muestras de arroz, trigo y sus productos derivados, así como en sus entornos relacionados con el cultivo, el procesado y el consumo. El objetivo último del estudio fue identificar y determinar las posibles vías de contaminación y comprender cómo minimizar o erradicar dicha contaminación. En dicho estudio se investigó la incidencia y distribución de *Cronobacter* en 1245 muestras de cereales y ambientes relacionados. El 39,1 % (101/258) de las muestras relacionadas con el arroz y el 46,9 % (98/209) de las muestras relacionadas con el trigo dieron positivo para dicho microorganismo, y la tasa positiva difirió notablemente según el método de procesado. *Cronobacter* se encontró en plantas de arroz y trigo en las etapas de macollamiento, llenado y madurez. Se analizaron muestras de suelo, agua e hisopos de plantas de molienda cercanas y los resultados revelaron que el 6,3 % (7/122) del agua de los arrozales, el 49,1 % (28/57) y el 62,1 % (41/67) de las muestras de hisopos del arroz y las plantas de molienda de harina de trigo fueron positivas para *Cronobacter* spp. La subtipificación de la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) indicó que algunas cepas tenían un perfil común, lo que sugería su persistencia en el medio ambiente, posibles rutas de transmisión y contaminación cruzada en el procesado. Finalmente, se realizó un muestreo a 18 familias para evaluar los riesgos potenciales y se observó que ninguna de las familias que comieron, principalmente, arroz cocido en agua, dio positivo por *Cronobacter* spp., sin embargo, el 66,7 % de las familias (6/9) cuyos alimentos básicos se produjeron a partir de harina de trigo sí dieron positivo.

Hoy en día, las medidas biológicas para el control de los patógenos transmitidos por los alimentos son cada vez más atractivas debido a la aparición de resistencias a los antimicrobianos y a la concienciación de los consumidores sobre los problemas de salud relacionados con los aditivos y conservantes químicos de los alimentos (Balciunas et al., 2013) (Oliveira et al., 2018). El uso de agentes bioprotectores como compuestos derivados de plantas, probióticos, bacteriófagos y/o sus metabolitos que exhiben efectos antagónicos son algunos de los enfoques investigados contra *C. sakazakii* hasta el momento. Así como en los últimos años han aparecido numerosas revisiones dirigidas a los enfoques fisicoquímicos para la inactivación de *C. sakazakii* (Pina-Pérez et al., 2016) (Hu et al., 2018) (Henry y Fouladkhah, 2019), los métodos biológicos no se han discutido exhaustivamente hasta ahora.

7.4 Metodología

Varios métodos para el aislamiento e identificación de *Cronobacter* spp. en los alimentos se han estandarizado. Las metodologías más conocidas para el aislamiento de *Cronobacter* spp. se referencian en el Manual de Análisis Bacteriológico de la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (BAM-FDA) (Chen et al., 2012) y en la norma ISO 22964:2017 (Organización Internacional de Normalización) (ISO, 2017a). Ambos utilizan una etapa de preenriquecimiento y medios de cultivo cromogénicos.

Además, se han encontrado varios métodos analíticos para la identificación del género *Cronobacter* spp. con una buena precisión, incluidos kits comerciales, PCR, *Multilocus Sequence Typing* (MLST), que es bastante eficiente tanto para la identificación como para la tipificación microbiana, y, más recientemente, el espectrómetro de masas con fuente MALDI y analizador de tiempo de vuelo (TOF), conocido como MALDI-TOF/MS (Joseph et al., 2012) (Forsythe et al., 2014). Sin embargo, la investigación con MALDI-TOF/MS y *Cronobacter* spp. es todavía algo escasa en la literatura. La PFGE permite la tipificación.

7.5 Pasos futuros

Son necesarios estudios ecológicos amplios y en profundidad de los hábitats de *Cronobacter* spp. para identificar la aparición y las características de estos patógenos presentes en las diversas categorías de alimentos y diversos entornos alimentarios en los que pueden encontrarse y, además, se requieren muestreos lo suficientemente representativos.

El presente patógeno emergente está muy estudiado (dada la especial importancia de esa población de riesgo) en FIP y en el ambiente de sus fábricas de procesado, pero también conviene prestar importancia a otros productos como los cereales.

Hay técnicas utilizables, contrastables y de referencia de organismos de reconocido prestigio, como en el *Bacteriological Analytical Manual* (BAM-FDA) de Estados Unidos (Chen et al., 2012) o la norma ISO 22964:2017 (ISO, 2017a). Ahora bien, también se están investigando técnicas prometedoras tales como el MALDI-TOF/MS.

Hay un buen número de enfoques fisicoquímicos y técnicas de procesado de alimentos basadas en dichos enfoques para la inactivación y destrucción de *Cronobacter* spp. en alimentos. Sin embargo, hay que profundizar en el estudio de agentes bioprotectores como pueden ser los derivados de plantas, probióticos, bacteriófagos y/o sus metabolitos que provocan un efecto antagónico en el microorganismo.

8. *Campylobacter* spp.

8.1 Generalidades

La campilobacteriosis es una zoonosis de distribución mundial causada por bacterias del género *Campylobacter*. Dichas bacterias son bacilos Gram negativos, con forma de "espiral", que crecen con poco oxígeno y que presentan su crecimiento óptimo a 42-43 ºC (AESAN, 2022a). El género *Campylobacter* comprende 17 especies y 6 subespecies, de las cuales las detectadas con más frecuencia en enfermedades humanas son *C. jejuni* (subspecie *jejuni*) (80 %) y *C. coli* (10 %). En el ser humano, la campilobacteriosis cursa con enterocolitis aguda que se manifiesta con malestar, fiebre, dolores abdominales severos, dolor de cabeza, náuseas y/o vómitos y diarrea acuosa o sanguinolenta. El periodo de incubación oscila entre 1 y 11 días (normalmente de 1-3 días). En la mayoría de los casos, la diarrea tiende a remitir por sí misma. Las bacteriemias ocurren en <1 % de los pacientes con enteritis, pudiéndose producir también secuelas que cursan como desórdenes reumatoides o neuropatías periféricas como la parálisis neuromuscular del síndrome de Guillain-Barré (AESAN, 2012a). En las zonas de bajos recursos, las infecciones por *Campylobacter* son comunes

en los niños pequeños (causando diarrea acuosa en lugar de la diarrea sanguinolenta que se produce en los países de altos recursos) y se asocian a muchas muertes, así como a un retraso en el crecimiento y a deficiencias físicas y cognitivas de por vida (Corcionivoschi y Gundogdu, 2021). Además, como ha destacado la OMS, *C. jejuni* es un patógeno resistente a múltiples antibióticos y se necesitan urgentemente nuevas terapias (OMS, 2020).

La campilobacteriosis es la infección gastrointestinal transmitida por los alimentos más comúnmente notificada en los seres humanos en la Unión Europea desde 2005. En 2020, la notificación de campilobacteriosis registró el número más bajo de casos desde que comenzó la vigilancia de la campilobacteriosis en 2007, debido a los impactos de la retirada del Reino Unido de la Unión Europea y la pandemia COVID-19. En 2020, el número de casos confirmados en la Unión Europea ascendió a 120 946 (tasa de notificación de 40,3 por cada 100 000 habitantes). En total, se notificaron 317 brotes causados por alimentos contaminados con *Campylobacter* spp. a la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), incluyendo 1319 casos de enfermedad, 112 hospitalizaciones y ninguna muerte (EFSA/ECDC, 2021b).

La notificación de la campilobacteriosis es obligatoria en 22 Estados miembros de la Unión Europea. En 5 Estados miembros, la notificación se basa en un sistema voluntario (Bélgica, Francia, Grecia, Italia y Países Bajos). En España, la campilobacteriosis es una enfermedad de declaración obligatoria (EDO), tal y como establece el Real Decreto 2210/1995, por el que se crea la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (BOE, 1995). Las comunidades autónomas deben comunicar de forma individualizada los casos confirmados.

8.2 Transmisión

El principal reservorio de *Campylobacter* spp. son las aves, además del ganado bovino, ovino, porcino, roedores, perros y gatos, así como otros mamíferos y aves silvestres. El espectro de reservorios varía con la especie: *C. jejuni* se encuentra muy difundido, mientras *C. coli* se aísla más frecuentemente de los cerdos. La adquisición primaria de *Campylobacter* spp. por los animales acontece tras el nacimiento y aunque puede ser causa de morbi-mortalidad en estos animales, en la mayoría de las ocasiones, la colonización conduce a un estado permanente de portador.

En el año 2019, la AESAN recopiló un total de 1951 resultados de análisis en alimentos, correspondientes a 2018, en los que se detectó la presencia de *Campylobacter* spp. en 512 muestras, lo que representaba un 26,24 % de muestras positivas con respecto al total. En 2020 el porcentaje de positivos llegó hasta el 44,04 %, lo cual supone un fuerte incremento con respecto a los datos previos (AESAN, 2022a).

La contaminación de los alimentos por *Campylobacter* spp. en la Unión Europea se vigila de acuerdo con el capítulo II ("Vigilancia de zoonosis y agentes zoonóticos") de la Directiva sobre zoonosis 2003/99/CE (UE, 2003). La forma más frecuente de trasmisión de esta zoonosis al ser humano es a través de la carne de pollo poco cocinada, o alimentos listos para el consumo (RTE de sus siglas en inglés *ready-to-eat*) que han estado en contacto con pollo crudo. En sus evaluaciones, la EFSA ha comprobado que los pollos y la carne de pollo pueden representar directamente entre el 20 y el 30 % de los casos en los humanos (EFSA/ECDC, 2021b). Dentro de los RTE, el alimento más

frecuentemente contaminado con *Campylobacter* spp. fue la leche cruda, confirmando la tendencia de 1 de cada 100 notificados durante el periodo 2016-2019. Además, los datos mostraron resultados positivos para la carne y productos cárnicos, seguido de frutas, verduras y zumos.

8.3 Epidemiología y resistencia a los antibióticos

En los últimos años, las investigaciones orientadas a comprender mejor la patogenicidad y la fisiología de *Campylobacter* spp. han crecido de forma significativa. Además, varios estudios de investigación se centran en modelos de infección y/o aspectos inmunológicos de la infección por *C. jejuni* (Corcionivoschi y Gundogdu, 2021).

En relación con los estudios en el entorno de las granjas y mataderos, en un estudio reciente realizado en un matadero de la Comunidad Valenciana, para evaluar la epidemiología y la resistencia de *C. jejuni* a los antimicrobianos en el procesamiento de cerdos, los resultados mostraron que todos los lotes llegaron al matadero existiendo *Campylobacter* spp. en las heces, y permanecieron positivos durante el procesado y sacrificio (42,8 %), incluso justo antes de la entrega al consumidor. Además, el 96,3 % de los aislados de *C. jejuni* (la principal especie implicada en la infección humana de origen alimentario) eran cepas multirresistentes a los antibioticos (Marin et al., 2021).

En otro estudio transversal realizado entre los años 2014-2016 en 301 rebaños de rumiantes del País Vasco para estimar la prevalencia de *C. jejuni* y *C. coli*, e investigar su susceptibilidad a los antimicrobianos, se comprobó que el riesgo de excreción de *C. jejuni* fue mayor en el ganado bovino que en el ovino (81,2 % frente al 45,2 %), mientras que el riesgo de excreción de *C. coli* fue mayor en el ganado ovino que en el bovino (19,1 % frente al 11,3 %) (Ocejo et al., 2019). *C. coli* mostró una mayor resistencia (94,1 %, 32/34) que *C. jejuni* (65,1 %, 71/109), y la resistencia estaba más extendida en los aislados de ganado vacuno lechero que en los de ganado vacuno de carne u ovino. En comparación con los resultados obtenidos 10 años antes (2003-2005) en un estudio similar (Oporto et al., 2007), se observó un aumento de la resistencia a las fluoroquinolonas en *C. jejuni* procedentes de ganado vacuno de carne (32,0 a 61,9 %), y una disminución de la resistencia a las tetraciclinas en *C. jejuni* procedentes de ganado vacuno lechero (75,0 % frente a 43,2 %). La resistencia a los macrólidos se mantuvo estable en tasas bajas y restringidas a *C. coli* del ganado lechero, y todos los *C. coli* resistentes a los macrólidos mostraron un patrón de panresistencia.

8.4 Metodologías para la detección

El método de referencia para la detección de *Campylobacter* spp. en productos destinados al consumo humano viene definido en la norma ISO 10272-1:2017 (ISO, 2017b). Este método contempla, tanto la detección mediante enriquecimiento, como la siembra directa en placa. Dicha norma tiene tres submétodos:

a) Detección por enriquecimiento para muestras con bajos niveles de campilobacterias y microbiota basal.
b) Detección por enriquecimiento para muestras con bajos niveles de campilobacterias y alto nivel de microbiota basal.
c) Detección para siembra directa para muestras con alto contenido de campilobacterias.

Para el enriquecimiento del procedimiento (A) se emplea el caldo Bolton e incubación durante 4-6 horas a 37 ºC y, a continuación, a 41,5 ºC durante 44 horas. Para el procedimiento (B) se emplea el caldo Preston y se incuba a 41,5 ºC durante 24 horas. Todas estas incubaciones se realizan en microaerobiosis. A continuación, los caldos enriquecidos se siembran en medios sólidos. Para el procedimiento (A) se siembra en agar mCCD (*Modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate*) y otro medio selectivo basado en unos principios de selección diferentes a mCCD como, por ejemplo, el *RAPID'Campylobacter Medium* de Biorad o el agar CASA y *CampyFood* de BioMerieux®. Para el procedimiento (B) y (C) se siembra exclusivamente en mCCD. Las placas se incuban a 41,5 ºC durante 44 horas en microaerobiosis. Para la confirmación de las colonias sospechosas, se examina la morfología y movilidad, se realiza la prueba de la oxidasa y un análisis de crecimiento aerobio a 25 ºC. Además, se pueden emplear pruebas bioquímicas como las galerías API Campy o pruebas moleculares. Existe pues una metodología suficientemente contrastada como se corresponde con un método normalizado. El método ISO ha sido recientemente usado con éxito para aislar *Campylobacter* spp. de muestras de cerdo (Linn et al., 2021). Para la detección cualitativa de *Campylobacter* spp. de muestras de leche, se realizó una dilución 1/10 de la muestra de leche en caldo de enriquecimiento Bolton e incubaron a 37 ºC durante 48 horas con 5 % de CO_2 y luego sembraron en mCCDA e incubaron a 42 ºC durante 48 horas en atmósfera 5 % de CO_2. Para realizar contaje se sembraron directamente 100 µl de leche en mCCDA. Además, también se han desarrollado otros métodos que combinan la microbiología clásica con otras técnicas. Por ejemplo, se ha valido el sistema basado en anticuerpos VIDAS (BioMerieux®) en matrices como carne picada de ternera o vegetales (Chon et al., 2011). Otro de los métodos de gran interés es la qPCR. Stingl et al. (2021) desarrollaron un método para la cuantificación de *Campylobacter* spp. termófilos viables totales con un límite de cuantificación de 20 equivalentes genómicos por reacción de PCR. También se han desarrollado métodos moleculares basados en técnicas isotérmicas, que suelen ser más fáciles de aplicar en la industria alimentaria y que se encuentran disponibles comercialmente. Un ejemplo es el ATLAS® *Campylobacter Campy Detection Assay* que se basa en la técnica isotérmica denominada Amplificación Mediada por Transcripción. Esta técnica solo requiere un enriquecimiento de 12 horas y se realiza el análisis molecular sin necesidad de realizar un paso de extracción de ácidos nucleicos (Rishi et al., 2021) y está validado, entre otras matrices, en carne de cerdo y ternera. En cuanto a la caracterización de las cepas, se ha empleado la PCR convencional para la detección, en *Campylobacter* spp., de genes resistencia como *tet(O)* o *blaOXA-61* y genes de virulencia como *flaA*, *cadF* o *cdtA* entre otros (Rangaraju et al., 2022).

9. *Escherichia coli* productores de toxinas Shiga

9.1 Generalidades

Según la ICMSF (1998), *E. coli* intestinal se define como aquellas cepas de *E. coli* que son capaces de causar una enfermedad diarreica en la especie humana y en los animales. En el microorganismo, a efectos prácticos y con interés clínico, se realiza una subdivisión de las formas patógenas, considerando el mecanismo subyacente a la enfermedad. Se han considerado cuatro tipos principales de *E. coli* patógeno hasta hace aproximadamente dos décadas: *E. coli* enteropatógeno (EPEC), *E. coli* enterotoxigénico

(ETEC), *E. coli* enteroinvasor (EIEC) y *E. coli* enterohemorrágico (EHEC) (en dicho tipo está encuadrado, por ejemplo, *E. coli* O157:H7) (Nataro y Kaper, 1998) (Kaper et al., 2004). Posteriormente se han añadido los patotipos *E. coli* enteroagregativos (EAEC) y *E. coli* con adherencia difusa (DAEC). El tipo EHEC también se conoce como verotoxigénicos o productores de toxinas Shiga (EHEC/VTEC/STEC).

De acuerdo con lo recogido en un informe del Comité Científico de la AESAN en el año 2012 (AESAN, 2012b) sobre medidas de prevención y recomendaciones aplicables para evitar posibles infecciones alimentarias por cepas de *E. coli* verotoxigénicos (VTEC)/productores de toxinas Shiga (STEC)/enterohemorrágicos (EHEC), ese grupo de microorganismos y muy especialmente las cepas altamente virulentas del serotipo O157:H7, son patógenos destacables causantes de patologías y procesos muy graves en la especie humana: puede producirse colitis hemorrágica (CH) y el síndrome urémico hemolítico (SUH). Se considera a los rumiantes, en particular al ganado vacuno como principal reservorio de este tipo de microorganismos (se trata de una zoonosis), considerándose, como principales vehículos de transmisión, la carne picada, las hamburguesas y los vegetales consumidos crudos o ligeramente cocinados (AESAN, 2012b).

Dada la especial importancia de este agente, el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) ha desarrollado un "protocolo de vigilancia de infección por cepas de *E. coli* productoras de toxina Shiga o verotoxinas" (ISCIII, 2016) y, de acuerdo con dicho protocolo, *E. coli* se clasifica, en muchas ocasiones, en más de 170 serogrupos (O), según las características antigénicas de su lipopolisacárido (LPS) y en serotipos, por la combinación de antígenos somáticos (O) y flagelares (H). El principal serotipo considerado de *E. coli* productor de toxina Shiga es el O157:H7, pero también pueden ser incluidos (al menos a un nivel clínico) los serotipos O26:H11, O76:H19, O91:H14, O103:H2, O111:H8, O113:114, O118:H16, O128:H2, O145:H28, O146:H21 u O169:H41 (ISCIII, 2016). El factor de virulencia fundamental y principal de estas cepas es el grupo de citotoxinas denominadas toxinas Shiga: toxina Stx1 o VT1, que puede decirse que es idéntica a la toxina producida por *Shigella dysenteriae* de tipo 1, y la toxina Shiga Stx2 o VT2, que es muy similar y comparte características funcionales idénticas.

Las toxinas Shiga producidas por VETC se detectan por la prueba de citotoxicidad específica en células Vero, de donde procede esta denominación del grupo (VTEC). Merecen destacarse en el grupo los serotipos O157:H7, O104:H4, O26, O103, O11 y O145 (ACSA, 2019).

En el anexo I de dicho protocolo (ISCIII, 2016) se presenta una encuesta epidemiológica muy detallada, incluyendo diferentes variables epidemiológicas y posibles alimentos causales. En el anexo II se incluye toma y envío de muestras.

En base a los datos recopilados por la EFSA y el Centro Europeo de Enfermedades Infecciosas (ECDC) (EFSA/ECDC, 2021b) los procesos de origen alimentario (toxiinfección alimentaria) por *E. coli* productora de toxinas Shiga en humanos son la cuarta zoonosis más frecuente en la Unión Europea. En 2020 se notificaron 4446 casos de enfermedad por STEC en personas (EFSA/ECDC, 2021b) (AESAN, 2022b).

En España la toxiinfección por VTEC-STEC es, desde hace algunos años, una enfermedad de declaración obligatoria (EDO). En el año 2020 se notificaron 74 casos de STEC-VTEC en personas, siendo la notificación en 2019 de 269 casos (AESAN, 2022b). En la Tabla 1 se detallan los brotes comprobados por VTEC/STEC en España (Mora et al., 2011) (Sánchez et al., 2014).

Tabla 1. Brotes por VETC/STEC en España				
Localización	**Año**	**Afectados/ situación**	**Seropatotipos**	**Número de afectados**
Ibiza	1986	Turistas británicos en un hotel	O157:H7 Stx2*	3 (+ 3 asintomáticos)
Islas Baleares	1994	Turistas británicos	O157:H7 Stx2 Fagotipo 2 (PT2)*	-
Álava	1995	Chicos en una casa de campo	O111:H- Stx1	13
Fuerteventura	1997	Turistas europeos en 4 hoteles	O157:H7 Stx2 Fagotipo 2 (PT2)	14 (3 con SUH*)
Guipúzcoa	1999	Niños de una guardería	O157:H7	8 (1 con SUH + 6 asintomáticos)
Guipúzcoa	1999	-	O157:H7	2 (1 con SUH + 2 asintomáticos)
Barcelona	2000	Niños de 5 colegios	O157:H7 Stx2 Fagotipo 2 (PT2)	175 (6 con SUH)
Lugo	2003	Brote familiar	O157:H7 Stx1 Stx2 Fagotipo 8 (PT 8)	3
Lugo	2003	Brote familiar	O26:H11 *vt*	4
Cáceres	2007	-	O157:H7 Stx2 Fagotipo 14 (PT 14)	3
Navarra (Pamplona)	2012	Brote familiar	2 cepas O76:H19 STEC, 6 cepas aEPEC	4 (varios asintomáticos)

*SUH: Síndrome Urémico Hemolítico; Stx: *Shiga toxin* (toxina Shiga); PT: fagotipo. **Fuente:** (Mora et al, 2011) (Sánchez et al., 2014).

El mayor brote se produjo en el año 2000 en diferentes escuelas en la ciudad de Barcelona y fue causado por el serotipo O157:H7.

Cada cierto tiempo se producen alertas sanitarias alimentarias en relación con VTEC, sin ir más lejos se ha producido una procedente, inicialmente, de Francia en la reciente primavera de 2022, relativa a pizzas congeladas contaminadas (STEC-VTEC O26). Otra alerta alimentaria reciente se ha producido por presencia de *E. coli* productora de toxinas Shiga en queso *Brie* procedente de Francia (ES 2020/91) (AESAN, 2020).

9.2 Carne de vacuno

El ganado vacuno puede ser portador de cepas VTEC. Se trata de una zoonosis demostrada. Mora et al. (2011), en relación con el entorno de la ciudad de Lugo, indicaron que, en los años anteriores a dicho año 2011, detectaron una importante disminución de la prevalencia de VTEC-STEC en la carne de vacuno vendida en dicha ciudad. Especialmente importante es la ausencia de positividad para STEC-VTEC O157:H7 en el período 2005–2009. STEC O157:H7 se detectó en 8 casos (0,6 %), y STEC-VTEC no O157 en 146 (10 %), de 1445 muestras analizadas entre los años 1995 y 2009. Ninguna de las cepas STEC-VTEC aislada de vacuno en el entorno de Lugo pertenecía al serotipo O104:H4,

que fue el implicado en la "denominada crisis de los pepinos vendidos en Alemania -en realidad por brotes de fenogreco o alhova-". Sin embargo, el nivel de las muestras contaminadas con VTEC no O157 seguía siendo demasiado alto, lo que indica la necesidad de extremar la higiene, el control y la vigilancia a lo largo de la cadena alimentaria (AESAN, 2012b).

Cepas de STEC-VTEC pueden encontrarse en ovino y caprino. En relación con el ganado vacuno hay que considerar el medioambiente en el que se encuentra y los animales salvajes de las proximidades. En el estudio de Mora et al. (2012) se concluye y confirma que, en base a los resultados obtenidos, las poblaciones de ciervo, jabalí y el zorro del noroeste de España son portadores de cepas de STEC-VTEC que son potencialmente patógenas para los humanos y contribuyen al mantenimiento y transmisión de VTEC-STEC. Sánchez et al. (2010) realizaron aislamientos VTEC-STEC en rumiantes salvajes como ciervo, gamo, corzo y muflón, lo que ratifica y confirma que los rumiantes salvajes también pueden ser un reservorio de cepas de STEC-VETC.

9.3 Leche cruda

La leche cruda puede llegar a ser un problema dado que, al no existir tratamiento térmico de pasteurización, no hay, lo que se denomina, "tratamiento higienizante terminal". Es un producto alimentario muy peligroso si no se extreman las condiciones higiénicas de la explotación y planta de procesado. El agente puede, en ciertas circunstancias, aislarse en quesos.

Rey et al. (2006) examinaron 502 muestras de productos lácteos de 64 rebaños ovinos y caprinos diferentes y de 6 plantas lácteas en Extremadura. Se realizó un muestreo mensual entre marzo de 2003 y junio de 2004 y analizaron 360 muestras de leche sin pasteurizar obtenidas de tanque a granel (tanque de almacenamiento de leche), 103 muestras de cuajada de queso fresco y 39 de queso. Se detectaron cepas VTEC-STEC en 39 (11 %) de las muestras del tanque a granel, 4 (4 %) de los de queso fresco cuajada, y 2 (5 %) de las de queso. Se aisló O157: serotipo H7 de una muestra de tanque a granel (0,3 %). Un total de 9 cepas VTEC-STEC (O27:H18, O45:H38, O76:H19, O91:H28, O157:H7, ONT:H7, ONT:H9 y ONT:H21) fueron identificadas en dicha investigación.

Hay un estudio realizado en Extremadura (Sánchez et al., 2010), donde se analizaron, caracterizado y tipificado 46 aislamientos de *E. coli* O157:H7 obtenidos de las heces de diferentes rumiantes sanos (ganado vacuno, ovejas y ciervo común) y de leche de cabra no pasteurizada durante un período de 11 años (1997-2008). Dichos aislamientos procedían de estudios previos realizados en la propia comunidad autónoma. Se detectó una cepa atípica de *E. coli* O157:H7 (fermentadora de sorbitol y β-glucuronidasa positiva) procedente de heces de ciervo. Los genes que codifican las toxinas Shiga estaban presentes en el 69,6 % de los aislamientos y todos ellos portaban solo el gen Stx2. Los aislados procedían de nueve tipos fágicos diferentes, aunque el 67,4 % se restringió a solo tres: PT14, PT34 y PT54. PT54 fue el tipo de fago más prevalente y se detectó en aislamientos de bovinos, ovinos y venados. La mayoría de los aislamientos procedían de tipos de fagos encontrados previamente en cepas asociadas con la infección humana.

En otro estudio realizado en la Comunidad Autónoma de Castilla y León, Caro et al. (2007) caracterizaron 13 VETC-STEC cepas aisladas de productos lácteos de oveja en Castilla y León. 8 cepas aisladas de la leche pertenecían al serotipo O157:H7. 3 cepas STEC (2 del serogrupo O14 y 1 ONT) se

detectaron en 2 muestras (2,4 %) de queso tipo Castellano, uno con unos 2,5 meses de maduración y el otro con un período de maduración de 12 meses.

También en la misma Comunidad Autónoma de Castilla y León se realizaron otros estudios relativos a leche cruda y quesos elaborados a partir de la misma, teniendo en cuenta el ambiente y los equipos de la explotación. Se ha investigado en leche cruda de cabra (Álvarez, 2014), leche cruda de oveja (Otero, 2014) y leche cruda de vaca (Rios, 2018). En los tres tipos de leche cruda se aislaron cepas STEC-VETC, por ello hay que enfatizar la importancia del extremo cuidado en las condiciones higiénicas de las granjas, salas de ordeño e instalaciones de procesado de leche.

9.4 Verduras de hoja verde

Ceuppens et al. (2015) realizaron un amplio estudio colaborativo en relación a la producción primaria y la inocuidad alimentaria con respecto a las verduras de hoja verde. En él se contrastó y evaluó la calidad microbiológica y la seguridad alimentaria de las verduras de hoja verde y fresas en producción primaria en diferentes países, en concreto Bélgica, Brasil, Egipto, Noruega y España, mediante recuentos de *E. coli* (un microorganismo marcador de condiciones higiénicas e índice de contaminación fecal en aguas) y detección de *Salmonella* spp., *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) y *Campylobacter* spp.

Las muestras de agua eran más propensas a contener patógenos (54 positivos de 950 análisis) que el suelo (16/1186) y productos del campo (18/977 para verduras de hoja verde y 5/402 para fresas). La prevalencia de patógenos también varió notablemente según la región geográfica donde se muestreó. La irrigación de los campos de cultivo aumentó considerablemente el riesgo, con *odds ratio* (OR) de 10,9 para *Salmonella* spp. y de 7,0 para STEC. Se presentó una asociación significativa entre recuentos elevados de *E. coli* indicador genérico y la detección de patógenos (OR de 2,3 para STEC-VTEC y 2,7 para *Salmonella*). En la investigación se encontró que, como era de presuponer, *E. coli* indicador genérico es un microorganismo índice o indicador adecuado para *Salmonella* spp. y STEC-VTEC, pero en menor medida para *Campylobacter* spp. En el artículo se plantea que deben tenerse en cuenta directrices precisas o guías recomendadas sobre la frecuencia en los muestreos y sobre el valor umbral para *E. coli* en el agua de riego y que pueden diferir de una región a otra. En la investigación, las muestras positivas para STEC-VTEC aparecen en agua y suelo, no en verduras y fresas.

Los datos de muestreo en relación a España proceden de los estudios de Castro-Ibañez et al. (2015a, b). Un trabajo reciente y muy interesante es el de Truchado et al. (2021) en relación con los nuevos estándares a nivel de la Unión Europea sobre reutilización de agua para riego agrícola y su relación con las estaciones depuradoras de aguas residuales españolas, en la Tabla 2 de dicho trabajo se presentan resultados en relación con diferentes puntos de muestreo. En la entrada de las plantas de tratamiento se observa un número notable de muestras con detección de STEC-VTEC no O157:H7 y *E. coli* O157:H7 (en ambos casos prevalencia del 100 %, tanto en uno como en el otro), y se observa alguna muestra a nivel de cultivo que es positiva (3/100) a STEC-VETC no O157:H7.

9.5 Metodologías para la detección

En cuanto a detección e identificación, se utilizan métodos culturales (especialmente desarrollados para VTEC/STEC O157:H7, los no O157 a veces son complicados en su detección e identificación),

métodos serológicos, PCR convencional y PCR cuantitativa. Una técnica extremadamente útil para la tipificación es la PFGE.

Hay una norma ISO aplicable a STEC-VTEC que es la ISO/TS 13136:2012: "Microbiología de alimentos y piensos. Método basado en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para la detección de patógenos transmitidos por los alimentos. Método horizontal para la detección de *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) y la determinación de serogrupos O157, O111, O26, O103 y O145" (ISO, 2012).

Información detallada y contrastada en relación con métodos para detección y caracterización de STEC-VETC la encontramos en el informe de la EFSA relativo a "STEC y riesgos planteados para la salud pública debidos a la contaminación de los alimentos por STEC" (EFSA, 2020). En dicho informe se revisan los métodos para detectar STEC-VTEC que son: (1) uso de métodos de cultivo basados en medios selectivos y diferenciales -entre ellos tenemos el conocido agar sorbitol MacConkey-, y utilización de cultivos celulares; (2) métodos inmunológicos (como kits ELISA, perlas inmunomagnéticas -permiten una concentración o enriquecimiento-); y (3) métodos moleculares (detección de genes codificantes de la toxina Shiga; en dicho informe se indica que últimamente se ha realizado una aproximación metagenómica en relación con la detección directa y caracterización de STEC-VETC en muestras de heces).

El informe incluye métodos basados en PCR (convencional y en tiempo real); métodos estandarizados para la detección de STEC-VTEC en alimentos y piensos, como la norma ISO 13136:2021 ya mencionada o la ISO 16654:2001 (en dicha norma hay una concentración inmunomagnética utilizando perlas magnéticas, en 2018 hay una enmienda o modificación de la misma); métodos utilizables para tipificar las cepas STEC-VETC mediante serotipia y serotipificación molecular, y fagotipia (ISO, 2001).

Para subtipificación y caracterización-huella molecular en estudios epidemiológicos y poblacionales son útiles los métodos de tipificación molecular como la PFGE y análisis MLVA. WGS puede ser una herramienta muy útil, también tipaje por SNPs.

Por otra parte, en el *Bacteriological Analytical Manual* de Estados Unidos (BAM Council, 2022) encontramos una buena y contrastada descripción de métodos recopilada por Feng et al. (2020).

10. Encefalitis vírica transmitida por garrapatas

10.1 Generalidades

La encefalitis vírica transmitida por garrapatas (TBE, *Tick-Borne Encephalitis*) es una enfermedad grave de declaración obligatoria en la Unión Europea desde 2012 y que hoy en día se considera endémica en muchos países europeos (Amicizia et al., 2013). En 2019, en la Unión Europea se notificaron un total 3411 casos (0,7 por 100 000) (ECDC, 2021), de los cuales, 15 casos estuvieron asociados a 3 brotes alimentarios, con un 80 % de los casos hospitalizados (EFSA/ECDC, 2021a). Estos datos representan un incremento comparado con la tasa del 0,6 que se había descrito en años anteriores. Los casos de TBE generalmente presentan un pico estacional en los meses de julio y agosto. Los casos notificados son más elevados en los hombres adultos con edades comprendidas entre los 45 y 64 años, asociado a una mayor probabilidad de estar expuestos a garrapatas durante actividades al aire libre y al menor

uso de medidas preventivas (Lindquist et al., 2008) (Jepsen et al., 2019). España permanece libre de la enfermedad, aunque existe el vector principal que son las garrapatas del género *Ixodes* (ECDC, 2020) y se ha descrito un caso importado asociado a productos lácteos en Estonia (Camprubí et al., 2020).

El TBEV (*Tick-Borne Encephalitis Virus*) es un virus de ARN con envuelta, que pertenece al género *Flavivirus* dentro de la familia *Flaviviridae*. La enfermedad se presenta en dos fases diferenciadas. Una primera fase de viremia asintomática o con síntomas pseudogripales de 2 a 8 días de duración. Y una segunda fase que se caracteriza por la afectación del sistema nervioso central, de 2 a 4 semanas de duración después de la infección. El cuadro clínico puede cursar como meningitis, encefalitis, o meningoencefalomielitis. Un alto porcentaje de estos enfermos (35-58 %) sufrirán secuelas y la tasa de letalidad en pacientes adultos se sitúa entre 1-3 %.

10.2 Transmisión

La forma normal de transmisión más frecuente en humanos es por la picadura de una garrapata, ya que estas son los vectores principales y reservorios del TBEV. La leche cruda de cabra, vaca y oveja pueden contener el virus y también puede ser una fuente de infección para el hombre. El virus infeccioso se ha aislado de derivados lácteos incluyendo yogur, mantequilla y queso (AESAN, 2015).

En los países de la Europa del Este es común la transmisión alimentaria por ingestión de leche cruda de oveja o cabra donde los brotes familiares son frecuentes por esta vía. En el último informe del ECDC del año 2020, se detectaron 5 brotes de TBEV en Austria y Eslovaquia, con 12 casos, todos ellos requirieron hospitalización debido al consumo de leche sin pasteurizar (EFSA/ECDC, 2021b). En este último informe, se destaca que Eslovenia realizó una monitorizacion en 19 muestras de leche cruda de cabra y oveja, no detectándose la presencia del virus en ninguna de ellas.

10.3 Estabilidad y supervivencia de TBEV en leche y productos lácteos

En general, los flavivirus son relativamente sensibles a la temperatura y los detergentes, aunque el TBEV no se inactiva completamente en leche de cabra después de 30 minutos de tratamiento a 65 ºC y es necesario tratamientos a 100 ºC durante 3 minutos para eliminar completamente la infectividad (Balogh et al., 2012).

En otro estudio reciente, Rónai y Egyed (2020) compararon la supervivencia del TBEV a distintas condiciones de pasteurización en leche de cabra y en quesos elaborados con o sin sal. Ambos métodos de pasteurización, a 63 ºC 30 minutos o a 72 ºC, 15 segundos, inactivaron completamente la infectividad del TBEV. Paralelamente, se detectaron virus infecciosos después de 10-25 días en leche cruda y en queso elaborado sin sal, dependiendo de la concentración inicial de virus. El virus sobrevivió en leche cruda durante 3 semanas de almacenamiento a 4 ºC y en queso elaborado sin sal durante 2 semanas. Tanto la pasteurización como la presencia de sal hicieron que ni en la leche de cabra ni en los quesos elaborados con esta leche se detectara la presencia del TBEV. Estos hallazgos subrayan que la forma más segura y sencilla de evitar la TBE transmitida por la leche es hervir/pasteurizar la leche antes de beberla, y si el consumidor insiste en la leche cruda, es importante inmunizar a los animales frente al TBEV en áreas endémicas.

10.4 Metodologías para la detección

En la actualidad no se dispone de métodos estandarizados y validados para la detección cualitativa o cuantitativa del TBEV en las matrices alimentarias de mayor riesgo, leche y sus derivados. Aunque se dispone de distintos métodos publicados que describen la metodología para aislar TBEV a partir de leche, en alguno de ellos se ha utilizado la detección de anticuerpos de TBEV en leche, utilizando técnicas de ELISA y una posterior confirmación mediante *Western blot* (Wallenhammar et al., 2020). Métodos moleculares se han utilizado para la detección de TBEV en muestras de leche y queso, basados en una etapa de aislamiento del virus de la matriz alimentaria, purificación del RNA viral y posteriormente su detección mediante RT-qPCR (Balogh et al., 2012) (Hennechart-Collette et al., 2022). Una de las limitaciones más importantes de estas técnicas moleculares es que el resultado positivo de la PCR no permite confirmar la infectividad del virus detectado.

Conclusiones del Comité Científico

El presente informe prospectivo aborda el interés de controlar, en alimentos en España, un grupo de bacterias, así como un peligro vírico. Inicialmente, cabe englobar en un primer apartado la prospección sobre *Acinetobacter* spp., *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* multirresistentes. Estos microorganismos se engloban dentro del acrónimo ESKAPE, que recoge a bacterias que, a causa de su multirresistencia, provocan una clínica en las personas altamente compleja. Un aspecto común a estos agentes es el interés que se ha presentado en muchos países del mundo y también de nuestro entorno (Europa) con un bajo número de datos de nuestro país en relación a su prevalencia y poblaciones de estos agentes encontrados en los alimentos, lo cual hace muy necesario disponer de los mismos, teniendo, además, en cuenta, que la población de riesgo tiende a aumentar. En base a la propuesta inicial, donde no se había considerado inicialmente, ni para *A. baumannii* ni para *K. pneumoniae*, la investigación en ensaladas de forma específica, los datos consignados aconsejan la introducción de este alimento en las búsquedas prospectivas.

Según la información reportada, se destaca la importancia de la transmisión de *P. aeruginosa* en ambientes clínicos y muestras alimentarias de origen vegetal destinadas a consumo en crudo. La aparición de cepas multirresistentes, junto con la elevada morbi-mortalidad en la población inmunodeprimida, hacen necesario el desarrollo de métodos lo suficientemente sensibles para su detección en alimentos. Asimismo, en el caso de *Campylobacter* spp. en carnes, aparte de origen avícola, dada la prevalencia hallada en granjas de vacuno, ovino y porcino, así como el incremento del número de muestras positivas en los estudios consignados, se considera importante la investigación en estas fuentes. También, aunque siempre se ha señalado a las carnes de aves como responsables de la transmisión de esta toxiinfección, sigue existiendo un alto número de casos en las personas, que no proceden de la carne de ave. Asimismo, hay evidencias del incremento de las multirresistencias en estas bacterias, lo cual es un dato adicional a tener presente.

Lo mismo se desprende de los datos en nuestro país relativos a *E. coli* productores de toxinas Shiga, donde se comprueba que los brotes que ha habido aconsejan el control de las matrices propuestas (carne de vacuno, leche cruda y verduras de hoja).

Los casos de enfermedades causadas por *B. cereus* y *Cronobacter* spp. son, en principio, menores, aunque en ambos casos las harinas y productos pulverulentos permiten la supervivencia de estos agentes de forma especial.

Finalmente, el único peligro vírico consignado, productor de encefalitis transmitida por garrapatas, resulta importante por el hecho de la gran dispersión de las garrapatas transmisoras en España. Por otra parte, la presencia, en ocasiones, en productos lácteos crudos, junto con la posibilidad del consumo de leche cruda, puede aconsejar disponer de más datos. Un inconveniente en este caso es la metodología, dado que la investigación de virus con capacidad infectiva es compleja y los métodos de búsqueda por PCR no aportan información sobre dicha capacidad infectiva, aunque disponer de dicha información resultaría, a nuestro juicio, relevante. Para el resto de peligros causados por bacterias objeto de este estudio está disponible metodología clásica robusta y también métodos avanzados de control e identificación.

Referencias

Abouelnaga, M., Lamas, A., Quintela-Baluja, M., Osman, M., Miranda, J.M., Cepeda, A. y Franco, C.M. (2016). Evaluation of the extent of spreading of virulence factors and antibiotic resistance in *Enterococci* isolated from fermented and unfermented foods. *Annals of Microbiology*, 66, pp: 577-585.

ACSA (2019). Agencia Catalana de Salud Pública. Mapa de peligros alimentarios. Peligro biológico - Bacteria. *E. coli* verotoxigénica (STEC/VTEC). Disponible en: https://acsa.gencat.cat/web/.content/_A_Z/E/inf_relacionada/E-coli-verotoxi_ES_MP.pdf [acceso: 28-06-22].

Adeyemi, F.M., Ojo, O.O., Badejo, A.A., Oyedara, O.O., Olaitan, J.O., Adetunji, C.O., Hefft, D.I., Ogunjobi, A.A. y Akinde, S.B. (2022). Integrated poultry-fish farming system encourages multidrug-resistant gram-negative bacteria dissemination in pond environment and fishes. *Aquaculture*, 548: 737558.

AESAN (2012a). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) con relación a las medidas de control para reducir la presencia de *Campylobacter* spp en carne fresca de aves (pollo). *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 16, pp: 21-55.

AESAN (2012b). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre medidas de prevención y recomendaciones aplicables para evitar posibles infecciones alimentarias por cepas de Escherichia coli verotoxigénicos/productores de toxinas Shiga/enterohemorrágicos (VETC/STEC/EHEC). *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 16, pp: 71-100.

AESAN (2015). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre los riesgos microbiológicos asociados al consumo de leche cruda y productos lácteos elaborados a base de leche cruda. *Revista del Comité Cientifico de la AESAN*, 21, pp: 45-78.

AESAN (2018). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la prospección de peligros biológicos de interés en seguridad alimentaria en España. *Revista del Comité Cientifico de la AESAN*, 28, pp: 11-67.

AESAN (2022a). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Campilobacteriosis. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/campilobacteriosis.htm [acceso: 28-06-22].

AESAN (2022b). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Toxiinfección por *Escherichia coli*. Seguridad Alimentaria/Gestión de Riesgos/Seguridad Biológica/Enfermedades de transmisión alimentaria/Toxiinfección por Escherichia coli. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/Escherichia_coli.htm [acceso: 28-06-22].

Aguilar-Bultet, L., Bagutti, C., Egli, A., Alt, M., Pekerman, L.M., Schindler, R., Furger, R., Eichenberger, L., Roloff, T.,

Steffen, I., Huebner, P., Stadler, T. y Tschudin-Sutter, S. (2020). Identification of a Cluster of Extended-spectrum Beta-Lactamase–Producing *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 101 Isolated from Food and Humans. *Clinical Infectious Diseases*, 73 (2), pp: 332-335.

Allydice-Francis, K. y Brown, P.D. (2012). Diversity of Antimicrobial Resistance and Virulence Determinants in *Pseudomonas aeruginosa* Associated with Fresh Vegetables. *International Journal of Microbiology*, 2012: 426241.

Alsonosi, A., Hariri, S., Kajsík, M., Oriešková, M., Hanulik, V., Röderová, M., Petrželová, J., Kollarová, H., Drahovská, H., Forsythe, S. y Holý, O. (2015). The speciation and genotyping of Cronobacter isolates from hospitalised patients. *European Journal of Clinical Microbiology and Infection Diseases*, 34 (10), pp: 1979-1988.

Álvarez, M.E. (2014). Caracterización de tipos patógenos de *Escherichia coli* y otros peligros biológicos asociados a la leche de cabra y productos derivados [tesis doctoral]. Universidad de León. Disponible en: https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/3607/tesis_8d55c0.PDF?sequence=1&isAllowed=y [acceso: 28-06-22].

Amicizia, D., Domnich, A., Panatto, D., Lai, P.L., Cristina, M.L., Avio, U. y Gasparini, R. (2013). Epidemiology of tick-borne encephalitis (TBE) in Europe and its prevention by available vaccines. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 9 (5), pp: 1163-1171.

Asif, M., Alvi, I.A. y Rehman, S.U. (2018). Insight into *Acinetobacter baumannii:* pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, alternative modalities. *Infection and Drug Resistance*, 11, pp: 1249-1260.

Bagley, S. y Seidler, R. (1978). Primary *Klebsiella* identification with MacConkey-inositol-carbenicillin agar. *Applied and Environmental Microbiology*, 36, pp: 536-538.

Balciunas, E.M., Martinez, F.A.C., Todorov, S.D., de Melo Franco, B.D.G., Converti, A. y de Souza Oliveira, R.P. (2013). Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. *Food Control*, 32 (1), pp: 134-142.

Balogh, Z., Egyed, L., Ferenczi, E., Bán, E., Szomor, K.N., Takács, M. y Berencsi, G. (2012). Experimental Infection of Goats with Tick-borne Encephalitis virus and the Possibilities to prevent virus transmission by raw goat milk. *Intervirology*, 55, pp: 194-200.

BAM Council (2022). Bacteriological Analytical Manual, U.S. FDA. Washington D.C.: Food and Drug Administration. Disponible en: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam [acceso: 28-06-22].

Barreiro, E. (2018). Analysis of Pyogenic Liver Abscesses. A*nnals of Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2, pp: 1-4.

Barron, J.C. y Forsythe, S.J. (2007). Dry stress and survival time of *Enterobacter sakazakii* and other Enterobacteriaceae in dehydrated powdered infant formula. *Journal of Food Protection*, 70 (9), pp: 2111-2117.

Bassetti, M., Ginocchio, F. y Mikulska, M. (2011). New treatment options against gram-negative organisms. *Critical Care*, 15: 215.

Baumgartner, A., Grand, M., Liniger, M. y Iversen, C. (2009). Detection and frequency of *Cronobacter* spp. (Enterobacter sakazakii) in different categories of ready-to-eat foods other than infant formula. *International Journal of Food Microbiology*, 131, pp: 189-192.

Beijerinck, M.W. (1911). Über Pigmentbildung bei Essigbakterien. *Zentralbl Bakteriol Parasitenkunde Infektionskrankheiten und Hygiene*, 29, pp: 167-176.

Berlau, J., Aucken, H.M., Houang, E. y Pitt, T.L. (1999). Isolation of *Acinetobacter* spp including *A. baumannii* from vegetables: implications for hospital-acquired infections. *Journal of Hospital Infection*, 42, pp: 201-204.

Berthold-Pluta, A., Garbowska, M., Stefanska, I. y Pluta, A. (2017). Microbiological quality of selected ready-to-eat leaf vegetables, sprouts and non-pasteurized fresh fruit-vegetable juices including the presence of *Cronobacter* spp. *Food Microbiology*, 65, pp: 221-230.

Beuchat, L.R., Kim, H., Gurtler, J.B., Lin, L.C., Ryu, J.H. y Richards, G.M. (2009). *Cronobacter sakazakii* in foods and factors affecting its survival, growth, and inactivation. *International Journal of Food Microbiology*, 136, pp: 204-213.

BOE (1995). Real Decreto 2210/1995, de 28 de diciembre por el que se crea la red nacional de vigilancia epidemiológica. BOE Nº 21 de 24 de enero de 1996, pp: 2153-2158.

Borremans, A., Smets, R. y Van Campenhout, L. (2020). Fermentation *Versus* Meat Preservatives to Extend the Shelf Life of Mealworm (*Tenebrio molitor*) Paste for Feed and Food Applications. *Frontiers in Microbiology*, 11: 1510.

Boué, G., Guillou, S., Antignac, J.P., Le Bizec, B. y Membré, J.M. (2015). Public Health Risk-benefit Assessment Associated with Food Consumption-A Review. *European Journal of Food Research & Review*, 5 (1), pp: 32-58.

Bouvet, P.J.M. y Grimont, P.A.D. (1986). Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 36, pp: 228-240.

Brady, C., Cleenwerck, I., S. Venter, S., Coutinho, T. y De Vos, P. (2013). Taxonomic evaluation of the genus *Enterobacter* based on multilocus sequence analysis (MLSA). *Systematic and Applied Microbiology*, 36, pp: 309-319.

Brandao, M.L.L., Umeda, N.S., Jackson, E., Forsythe, S.J. y de Filippis, I. (2017). Isolation, molecular and phenotypic characterization, and antibiotic susceptibility of *Cronobacter* spp. from Brazilian retail foods. *Food Microbiology*, 63, pp: 129-138.

Camprubí, D., Moreno-García, E., Almuedo-Riera, A., Martínez, M.J., Navarro, A., Martínez-Hernández, E. y Ambrosioni, J. (2020). First imported case of tick-borne encephalitis in Spain - was it alimentary? *Travel Medicine and Infectious Disease*, 37: 101701.

Capatina, D., Feier, B., Hosu, O., Tertis, M. y Cristea, C. (2022). Analytical methods for the characterization and diagnosis of infection with *Pseudomonas aeruginosa*: A critical review. *Analytical Chimica Acta*, 1204: 339696.

Caro, I., Mateo, J. y García-Armesto M.R. (2007). Phenotypical characteristics of Shiga-like toxin *Escherichia coli* isolated from sheep dairy products. *Letters in Applied Microbiology*, 45, pp: 295-300.

Carvalheira, A., Casquete, R., Silva, J. y Teixeira, P. (2017a). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* spp isolated from meat. *International Journal of Food Microbiology*, 243, pp: 58-63.

Carvalheira, A., Ferreira, V., Silva, J. y Tixeira, P. (2016). Enrichment of *Acinetobacter* spp from food samples. *Food Microbiology*, 55, pp: 123-127.

Carvalheira, A., Silva, J. y Teixeira, P. (2017b). Lettuce and fruits as a source of multidrug resistant *Acinetobacter* spp. *Food Microbiology*, 64, pp: 119-125.

Castro-Ibañez, I., Gil, M.I., Tudela, J.A. y Allende, A. (2015a). Microbial safety considerations of flooding in primary production of leafy greens: A case study. *Food Research International*, 68, pp: 62-69.

Castro-Ibañez, I., Gil, M.I., Tudela, J.A., Ivanek, R. y Allende, A. (2015b). Assessment of microbial risk factors and impact of meteorological conditions during production of baby spinach in the Southeast of Spain. *Food Microbiology*, 49, pp: 173-181.

Cawthorn, D.M., Botha, S. y Witthuhn, R.C. (2008). Evaluation of different methods for the detection and identification of *Enterobacter sakazakii* isolated from South African infant formula milks and the processing environment. *International Journal of Food Microbiology*, 127, pp: 129-138.

CDC (2022). Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos. *Cronobacter*. Disponible en: https://www.cdc.gov/cronobacter/index.html [acceso: 28-06-22].

Celandroni, F., Vecchione, A., Cara, A., Mazzantini, D., Lupetti, A. y Ghelardi, E. (2019). Identification of *Bacillus* species: implication on the quality of probiotic formulations. *PLoS One*, 14: e0217021.

Cetinkaya, E., Joseph, S., Ayhan, K. y Forsythe, S.J. (2013). Comparison of methods for the microbiological identification and profiling of *Cronobacter* species from ingredients used in the preparation of infant formula. *Molecular and Cellular Probes*, 27 (1), pp: 60-64.

Ceuppens, S., Johannessen, G.S., Allende, A., Tondo, E.C., El-Tahan, F., Sampers, I., Jacxsens, L. y Uyttendaele, M. (2015). Risk Factors for *Salmonella*, Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and *Campylobacter* Occurrence in Primary Production of Leafy Greens and Strawberries. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12 (8), pp: 9809-9831.

Cezario, R.C., de Mororais, D.L., Ferreira, J.C., Costa-Pinto, R.M., Darini, A.L.C. y Gontijo-Filho, P.P. (2009). Nosocomial outbreak by imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-b-lactamase in adult intensive care unit in a Brazilian teaching hospital. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27, pp: 269-274.

Chen, W., Yang, J., You, C. y Liu, Z. (2016). Diversity of *Cronobacter* spp. isolates from the vegetables in the middle-east coastline of China. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32 (6), 90.

Chen, Y., Lampel, K. y Hammack, T. (2012). *Cronobacter*. Bacteriological Analytical Manual (BAM). Laboratory Methods (food). Food and Drug Administration. Disponible en: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-29-cronobacter [acceso: 28-06-22].

Chon, J.W., Hyeon, J.Y., Choi, I.S., Park, C.K., Kim, S.K., Heo, S., Oh, S.W., Song, K.Y. y Seo, K.H. (2011). Comparison of three selective media and validation of the VIDAS *Campylobacter* assay for the detection of *Campylobacter jejuni* in ground beef and fresh-cut vegetables. *Journal of Food Protection*, 74 (3), pp: 456-460.

Ciginskiene, A., Dambrauskiene, A., Rello, J. y Adukauskiene, D. (2019). Ventilator-Associated Pneumonia due to Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii:* Risk Factors and Mortality Relation with Resistance Profiles, and Independent Predictors of In-Hospital Mortality. *Medicina*, 55: 49.

Ciui, B., Jambrec, D., Sandulescu, R. y Cristea, C. (2017). Bioelectrochemistry for miRNA Detection. *Current Opinion in Electrochemistry*, 5, pp: 183-192.

CLSI (2012). Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility Testing: 22nd Informational Supplement. M100-S22.CLSI, Wayne, PA.

Corcionivoschi, N. y Gundogdu, O. (2021). Foodborne Pathogen *Campylobacter*. *Microorganisms*, 9 (6): 1241.

Correa, C.M.C., Tibana, A. y Gontijo Filho, P.P. (1991). Vegetables as a source of infection with *Pseudomonas aeruginosa* in a University and Oncology Hospital of Rio de Janeiro. *Journal of Hospital Infection*, 18, pp: 301-306.

Davis, G.S. y Price, L.B. (2016). Recent Research Examining Links among *Klebsiella pneumoniae* from Food animals, and human Extraintestinal Infections. *Current Environmental Health Reports*, 3, pp: 128-135.

Díaz-Agero, C., López-Fresneña, N., Rincon, A.L., Hernandez, M., Ruiz-Garbajosa, P., Aranaz-Andres, J.M., Maechler, F., Gastmeier, P., Bonten, M.J.M. y Canton, R. (2019). Local prevalence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* intestinal carriers at admission and co-expression of ESBL and OXA-48 carbapenemase in *Klebsiella pneumoniae:* a prevalence survey in a Spanish University Hospital. *British Medical Journal Open*, 9: e024879.

Domingues, S., Rosario, N., Candido, A., Neto, D., Nielsen, K.M. y Da Silva, G.J. (2019). Competence for Natural Transformation Is common among clinical strains of Resistant *Acinetobacter* spp. *Microorganisms*, 7: 30.

ECDC (2020). Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades. Tick maps. Disponible en: https://ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/surveillance-and-disease-data/tick-maps [acceso: 28-06-22].

ECDC (2021). Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades. Tick-borne encephalitis. Annual epidemiological report for 2019. Disponible en: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER-TBE-2019.pdf [acceso: 28-06-22].

EFSA (2016). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. Including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA Journal*, 14 (7): 4524, pp: 1-93.

EFSA (2020). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. *EFSA Journal*, 18 (1): 5967, pp: 1-105.

EFSA/ECDC (2021a). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 19 (2): 6406, pp: 1-286.

EFSA/ECDC (2021b). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades. The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 19 (12): 6971, pp: 1-324.

Elkhawaga, A.A., Hetta, H.F., Osman, N.S., Hosni, A. y El-Mokhtar, M.A. (2020). Emergence of *Cronobacter sakazakii* in cases of neonatal sepsis in Upper Egypt: First report in North Africa. *Frontiers in Microbiology*, 11: 215.

El-Sharoud, W.M., O'Brien, S., Negredo, C., Iversen, C., Fanning, S. y Healy, B. (2009). Characterization of *Cronobacter* recovered from dried milk and related products. *BMC Microbiology*, 9, pp: 18-29.

EPINE (2019). Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. Estudio de prevalencia de enfermedades nosocomiales en España. Estudio EPINE. *EPPS*, 30. Disponible en: https://epine.es/api/documento-publico/2019%20EPINE%20Informe%20Espa%C3%B1a%2027112019.pdf/reports-esp [acceso: 28-06-22].

FAO/OMS (2006). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Estudio FAO Alimentación y Nutrición. Disponible en: https://www.fao.org/3/a0512s/a0512s.pdf [acceso: 28-06-22].

Feng, P., Weagant, S.D. y Jinneman, K. (2020). BAM Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*. Bacteriological Analytical Manual, U.S. FDA, Washington D.C.: Food and Drug Administration. Disponible en: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4a-diarrheagenic-escherichia-coli [acceso: 28-06-22].

Finkelstein, S., Negrete, F., Jang, H., Gangiredla, J., Mammel, M., Patel, I.R., Chase, H.R., Woo, J., Lee, Y., Wang, C.Z., Weinstein, L., Tall, B.D. y Gopinah, G.R. (2019). Prevalence, distribution, and phylogeny of type two toxin-antitoxin genes possessed by *Cronobacter* species where *C. sakazakii* homologs follow sequence type lineages. *Microorganisms*, 7 (11): 554.

Forsythe, S.J. (2018). Updates on the *Cronobacter* genus. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9, pp: 23-44.

Forsythe, S.J., Dickins, B. y Jolley, K.A. (2014). *Cronobacter*, the emergent bacterial pathogen *Enterobacter sakazakii* comes of age; MLST and whole genome sequence analysis. *BMC Genomics*, 15: 1121.

Friedemann, M. (2007). *Enterobacter sakazakii* in food and beverages (other than infant formula and milk powder). *International Journal of Food Microbiology*, 116 (1), pp: 1-10.

Friedemann, M. (2009). Epidemiology of invasive neonatal *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*) infections. *European Journal of Clinical and Microbiology Infection Diseases*, 28 (11), pp: 1297-1304.

Garbowska, M., Berthold-Pluta, A. y Stasiak-Rozanska, L. (2015). Microbiological quality of selected spices and herbs including the presence of *Cronobacter* spp. *Food Microbiology*, 49, pp: 1-5.

Gicova, A., Orieskova, M., Oslanecova, L., Drahovska, H. y Kaclikova, E. (2014). Identification and characterization of *Cronobacter* strains isolated from powdered infant foods. *Letters in Applied Microbiology*, 58 (3), pp: 242-247.

González, C.J., Santos, J.A., García-López, M.L. y Otero, A. (2000). Psychrobacters and related bacteria in freshwater fish. *Journal of Food Protection*, 63 (2), pp: 315-321.

Grabowski, N.T. y Klein, G. (2017). Microbiology of processed edible insect products - Results of a preliminary survey. *International Journal of Food Microbiology*, 243, pp: 103-107.

Gundogan, N. y Avci, E. (2013). Prevalence and antibiotic resistance of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species isolated from foods of animal origin in Turkey. A*frican Journal of Microbiology Research*, 7 (31), pp: 4059-4064.

Guo, X., Yu, Zh., Zhao, F., Sun, Zh., Kwok, L.Y. y Shengli, L. (2021). Both sampling seasonality and geographic origin contribute significantly to variations in raw milk microbiota, but sampling seasonality is the more determining factor. *Journal of Dairy Science*, 104, pp: 10609-10627.

Guo, Y., Zhou, H., Qin, L., Pang, Z., Qin, T., Ren, H., Pan, Z. y Zhou, J. (2016). Frequency, Antimicrobial Resistance and Genetic diversity of *Klebsiella pneumoniae* in Food Samples. *PlosONE*, 11 (4): e0153561.

Han, L., Gao, Y., Liu, Y., Yao, S., Zhong, S., Zhang, S., Wang, J., Mi, P., Wen, Y., Ouyang, Z., Zhang, J., Al-Shamiri, M.M., Li, P. y Han, S. (2022). An Outer membrane protein YiaD Contributes to Adaptive Resistance of Meropenem in *Acinetobacter baumannii. Microbiology Spectrum*, 10 (2), pp: 1-13.

Hartantyo, S.H.P., Chau, M.L., Koh, T.H., Yap, M., Yi, T., Cao, D.Y.H., Gutiérrez, R.A. y NG, L.C. (2020). Foodborne *Klebsiella pneumoniae*: Virulence Potential, Antibiotic Resistance, and risks to Food Safety. *Journal of Food Protection*, 83 (7), pp: 1096-1103.

Haryani, Y., Noorzaleha, A.S., Fatimah, A.B., Noorjahan, B.A., Patrick, G.B., Shamsinar, A.T., Laila, R.A.S. y Son, R. (2007). Incidence of *Klebsiella pneumoiae* in street foods sold in Malaysia and their characterization by antibiotic resistance, plasmid profiling and RAPD-PCR analysis. *Food Control*, 18, pp: 847-853.

Hennechart-Collette, C., Gonzalez, G., Fourniol, L., Fraisse, A., Beck, C., Moutailler, S., Bournez, L., Dheilly, N.M., Lacour, S.A., Lecollinet, S., Martin-Latil, S. y Perelle, S. (2022). Method for tick-borne encephalitis virus detection in raw milk products. *Food Microbiology*, 104: 104003.

Henry, M. y Fouladkhah, A. (2019). Outbreak history, biofilm formation, and preventive measures for control of *Cronobacter sakazakii* in infant formula and infant care settings. *Microorganisms*, 7 (3): 77.

Holý, O. y Forsythe, S. (2014). *Cronobacter* spp. as emerging causes of healthcare-associated infection. *Journal of Hospital Infection*, 86, pp: 169-177.

Houang, E.T.S., Chu, Y.W., Leung, C.M., Chu, K.Y., Berlau, J., Ng, K.C. y Cheng, F.B. (2001). Epidemiology and infection control implications of *Acinetobacter* spp in Hong Kong. *Journal of Clinical Microbiology*, 39 (1), pp: 228-234.

Hu, S., Yu, Y. y Xiao, X. (2018). Stress resistance, detection and disinfection of *Cronobacter* spp. in dairy products: A review. *Food Control*, 85, pp: 400-415.

Hunter, C.J. y Bean, J.F. (2013). *Cronobacter*: an emerging opportunistic pathogen associated with neonatal meningitis, sepsis and necrotizing enterocolitis. *Journal of Perinatology*, 33 (8), pp: 581-585.

Hurrell, E., Kucerova, E., Loughlin, M., Caubilla-Barron, S. y Forsythe, S.J. (2009). Biofilm formation on enteral feeding tubes by *Cronobacter sakazakii*, *Salmonella serovars* and other *Enterobacteriaceae*. *International Journal of Food Microbiology*, 136 (2), pp: 227-231.

ICMSF (1998). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganismos de los alimentos: Características de los patógenos microbianos. Volumen 5. Acribia, Zaragoza.

ICMSF (2002). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microbiological testing in food safety management. Boston (USA): Springer.

ISCIII (2016). Protocolo de vigilancia de infección por cepas de *Escherichia coli* productoras de Toxina Shiga o verotoxina (SETC/VTEC). Instituto de Salud Carlos III, Madrid. Disponible en: https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Paginas/EColi.aspx [acceso: 28-06-22].

Isler, B., Doi, Y., Bonomo, R.A. y Paterson, D.L. (2019). New Treatment Options against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63: e0111018.

ISO (2001). International Organization for Standarization. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157. ISO 16654:2001.

ISO (2008). International Organization for Standarization. Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa*. Method by membrane filtration. ISO 16266:2008.

ISO (2012). International Organization for Standarization. Microbiology of food and animal feed — Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens — Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups. ISO/TS 13136: 2012.

ISO (2017a). International Organization for Standarization. Microbiology of the food chain. Horizontal methosd for the detection of *Cronobacter* spp. Geneva (Switzerland). ISO 22964: 2017.

ISO (2017b). International Organization for Standardization. Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 1: Detection method. ISO 10272-1: 2017.

Iversen, C., Lane, M. y Forsythe, S.J. (2004b). The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Letters in Applied Microbiology*, 38 (5), pp: 378-382.

Iversen, C., Lehner, A., Mullane, N., Bidlas, E., Cleenwerck, I., Marugg, J., Fanning, S., Stephan, R. y Joosten, H. (2007). The taxonomy of *Enterobacter sakazakii:* proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii* comb. nov. *Cronobacter sakazakii* subsp. *sakazakii*, comb. nov., *Cronobacter sakazakii* subsp. *malonaticus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter genomospecies* 1. *BMC Evolutionary Biology*, 7: 64.

Iversen, C., Mullane, N., McCardell, B., Tall, B.D., Lehner, A., Fanning, S., Stephan, R. y Joosten, H. (2008). *Cronobacter* gen. nov., a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii* gen. nov., comb. nov., *Cronobacter malonaticus* sp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov., *Cronobacter genomospecies* 1, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58 (6), pp: 1442-1447.

Jaradat, Z.W., Ababneh, Q.O., Saadoun, I.M., Samara, N.A. y Rashdan, A.M. (2009). Isolation of *Cronobacter* spp. (formerly *Enterobacter sakazakii*) from infant food, herbs and environmental samples and the subsequent identification and confirmation of the isolates using biochemical, chromogenic assays, PCR and 16S rRNA sequencing. *BMC Microbiology*, 9: 225.

Jepsen, M.T., Jokelainen, P., Jore, S., Boman, A., Slunge, D. y Krogfelt, K.A. (2019). Protective practices against tick bites in Denmark, Norway and Sweden: a questionnaire-based study. *BMC Public Health*, 19 (1), pp: 1-10.

Jones-Días, D., Manageiro, V., Ferreira, E., Barreiro, P., Vieira, L., Moura, I.B. y Caniça, M. (2016). Architecture of class 1, 2, and 3 integrons from Gram negative bacteria recovered among fruits and vegetables. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1400.

Joseph, S., Cetinkaya, E., Drahovska, H., Levican, A., Figueras, M. y Forsythe, S. J. (2012). *Cronobacter condimenti* sp. nov., isolated from spiced meat and *Cronobacter universalis* sp. nov., a novel species designation for *Cronobacter* sp. *genomospecies* 1, recovered from a leg infection, water and food ingredients. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, pp: 1277-1283.

Juma, N.A., Manning, G. y Forsythe, S.J. (2016). Desiccation survival of *Acinetobacter* spp. In infant formula. *Food Control*, 68, pp: 162-166.

Kandhai, M.C., Reij, M.W., Gorris, L.G., Guillaume-Gentil, O. y van Schothorst, M. (2004). Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *Lancet*, 363 (9402), pp: 39-40.

Kaper, J.B., Nataro, J.P. y Mobley, H.L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli. Nature Reviews Microbiology*, 2, pp: 123-140.

Kent, R.M., Fitzgerald, G.F., Hill, C., Stanton, C. y Ross, R.P. (2015). Novel approaches to improve the intrinsic microbiological safety of powdered infant milk formula. *Nutrients*, 7 (2), pp: 1217-1244.

Kerr, K.G. y Snelling, A.M. (2009). *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. *Journal of Hospital Infection*, 73, pp: 338-344.

Kim, H., Ryu, J.H. y Beuchat, L.R. (2006). Attachment and biofilm formation by *Enterobacter sakazakii* on stainless steel and enteral feeding tubes. *Applied and Environmental Microbiology*, 7, pp: 5846-5856.

Kim, H., Ryu, J.H. y Beuchat, L.R. (2007). Effectiveness of disinfectants in killing *Enterobacter sakazakii* in suspension, dried on the surface of stainless steel, and in a biofilm. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, pp: 1256-1265.

Kim, S.H., Wei, C.I., Tzou, Y.M. y An, H. (2005). Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Farm Environments and Retail Products in Oklahoma. *Journal of Food Protection*, 68 (10), pp: 2022-2029.

Ko, W.C., Paterson, D.L., Sagnimenti, A.J., Hansen, D.S., Von Gottberg, A., Mohapatra, S., Casellas, J.M., Goossens, H., Mulazimoglu, L., Trenholme, G., Klugman, K.P., Mc Cormack, J.G. y Yu, V.L. (2002). Community-Acquired *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: Global Differences in Clinical Patterns. *Emerging Infectious Diseases*, 8 (2), pp: 160-166.

Kominos, S.D., Copeland, C.E., Grosiak, B. y Postic, B. (1972). Introduction of *Pseudomonas aeruginosa* into a hospital via vegetables. *Applied Microbiology*, 24, pp: 567-570.

Kone, A., Adingra, A.A., Kambire, O. y Amenan, R.K. (2022). Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* isolated from universities restaurants of Abidjan, Côte d'Ivore. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 10 (01), pp: 206-212.

Lanini, S., D'Arezzo, S., Puro, V., Martini, L., Imperi, F., Piselli, P., Montanaro, M., Paoletti, S., Visca, P. e Ippolito, G. (2011). Molecular epidemiology of a *Pseudomonas aeruginosa* hospital outbreak driven by a contaminated disinfectant-soap dispenser: *PLoS One*, 6: e17064.

Lazcka, O., Del Campo, F.J. y Muñoz, F.X. (2007). Pathogen detection: A perspective of traditional methods and biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 22, pp: 1205-1217.

Lehner, A., Riedel, K., Rattei, T., Ruepp, A., Frishman, D., Breeuwer, P., Diep, B., Eber, L. y Stephan, R. (2006). Molecular characterization of the α-glucosidase activity in *Enterobacter sakazakii* reveals the presence of a putative gene cluster for palatinose metabolism. *Systematic and Applied Microbiology*, 9, pp: 609-625.

Lehner, A., Tall, B. D., Fanning, S. y Srikumar, S. (2018). *Cronobacter* spp. Opportunistic foodborne pathogens: an update on evolution, osmotic adaptation and pathogenesis. *Current Clinical Microbiology Reports*, 5 (2), pp: 97-105.

Lepuschitz, S., Ruppitsch, W., Pekard-Amenitsch, S., Forsythe, S.J., Cormican, M., Mach, R.L. y EUCRONI Study Group (2019). Multicenter study of *Cronobacter sakazakii* infections in humans, Europe, 2017. *Emerging Infectious Diseases*, 25 (3), pp: 515-522.

Li, Y., Yu, H., Jiang, H., Jiao, Y., Zhang, Y. y Shao, J. (2017). Genetic diversity, antimicrobial susceptibility, and biofilm formation of *Cronobacter* spp. recovered from spices and cereals. *Frontiers in Microbiology*, 8: 2567.

Lindquist, L. y Vapalahti, O. (2008). Tick-borne encephalitis. *Lancet*, 31, 371 (9627), pp: 1861-1871.

Linn, K.Z., Furuta, M., Nakayama, M., Masuda, Y., Honjoh, K.I. y Miyamoto, T. (2021). Characterization and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter* coli isolated from chicken and pork. *International Journal of Food Microbiology*, 360: 109440.

Lou, X., Yu, H., Wang, X., Qi, J., Zhang, W., Wang, H., Si, G., Song, S., Huang, C., Liu, T., Zheng, W. y Fang, Z. (2019). Potential reservoirs and routes of *Cronobacter* transmission during cereal growing, processing and consumption. *Food Microbiology*, 79, pp: 90-95.

Lupo, A., Vogt, D., Seiffert, S.N., Endimiani, A. y Perreten, V. (2014). Antibiotic resistance and phylogenetic characterization of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from commercial raw meat in Switzerland. *Journal of Food Protection*, 77 (11), pp: 1976-1981.

Marí-Almirall, M., Cosgaya, C., Pons, M.J., Nemec, A., Ochoa, Th., Ruiz, J., Roca, I. y Vila, J. (2019). Pathogenic *Acinetobacter* species including the novel *Acinetobacter dijkshoorniae* recovered from market meat in Peru. *International Journal of Food Microbiology*, 305: 108248.

Marin, C., Lorenzo-Rebenaque, L., Moreno-Moliner, J., Sevilla-Navarro, S., Montero, E., Chinillac, M.C., Jordá, J. y Vega, S. (2021). Multidrug-Resistant *Campylobacer jejuni* on Swine Processing at a Slaughterhouse in Eastern Spain. *Animals*, 11: 1339.

Mazzantini, D., Calvigioni, M., Celandroni, F., Lupetti, A. y Ghelardi, E. (2021). Spotlight on the Compositional Quality of Probiotic Formulations Marketed Worldwide. *Frontiers in Microbiology*, 12: 693973.

Mc Connell, M.J., Actis, L. y Pachón, J. (2013). *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. FEMS *Microbiology Reviews*, 37, pp: 130-155.

Meatherall, B.L., Gregson, D., Ross, T., Pitout, J.D.D. y Laupland, K. (2009). Incidence, Risk Factor, and outcomes of *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia. *The American Journal of Medicine*, 122 (9), pp: 866-873.

Mena, D. y Gerba, Ch. (2009). Risk assessment of *Psudomonas aeruginosa* in water. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 201, pp: 71-115.

Michalska, M. y Wolf, P. (2015). *Pseudomonas* Exotoxin A: optimized by evolution for effective killing. *Frontiers in Microbiology*, 6: 963.

Mora, A., Herrera, A., López, C., Dahbi, G., Mamani, R., Pita, J.M., Alonso, M.P., Llovo, J., Bernárdez, M.I., Blanco, J.E., Blanco, M. y Blanco, J. (2011). Characteristics of the Shiga-toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* O104:H4 German outbreak strain and of STEC strains isolated in Spain. *International Microbiology*, 14, pp: 121-141.

Mora, A., López, C., Dhabi, G., López-Beceiro, A.M., Fidalgo, L.E., Díaz, E.A., Martínez-Carrasco, C., Mamani, R., Herrera, A., Blanco, J.E., Blanco, M. y Blanco, J. (2012). Seropathotypes, Phylogroups, *Stx* Subtypes, and Intimin Types of Wildlife-Carried, Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains with the Same Characteristics as Human-Pathogenic Isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 78 (8), pp: 2578-2585.

Moran-Gilad, J., Adler, A., Schwartz, D., Navon-Venezia, S. y Carmeli, Y. (2014). Laboratory evaluation of different agar media for isolation of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. E*uropean Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 33, pp: 1909-1913.

Mullane, N., Healy, B., Meade, J., Whyte, P., Wall, P.G. y Fanning, S. (2008). Dissemination of *Cronobacter* spp. [*Enterobacter sakazakii*] in a powdered milk protein manufacturing facility. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (19), pp: 5913-5917.

Mullane, N.R., Whyte, P., Wall, P.G., Quinn, T. y Fanning, S. (2007). Application of pulsed-field gel electrophoresis to characterise and trace the prevalence of *Enterobacter sakazakii* in an infant formula processing facility. *International Journal of Food Microbiology*, 116 (1), pp: 73-81.

Nair, A.S. (2018). Minocycline: The second important antimicrobial in multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 34 (1): 140-141.

Nataro, J.P. y Kaper, J.B. (1998). Diarreagenic *Escherichia coli. Clinical Microbiology Reviews*, 11 (1), pp: 142-201.

Norberg, S., Stanton, C., Ross, R.P., Hill, C., Fitzgerald, G.F. y Cotter, P.D. (2012). *Cronobacter* spp. in powdered infant formula. *Journal of Food Protection*, 75 (3), pp: 607-620.

Ocejo, M., Oporto, B. y Hurtado, A. (2019). Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Cattle and Sheep in Northern Spain and Changes in Antimicrobial Resistance in Two Studies 10-years Apart. *Pathogens*, 8, pp: 98.

Odeyemi, O.A. y Sani, N.A. (2019). Antibiotic resistance, putative virulence factors and curli fimbrination among *Cronobacter* species. *Microbial Pathogenesis*, 136: 103665.

Oh, S.W., Chen, P.C. y Kang, D.H. (2007). Biofilm formation by *Enterobacter sakazakii* grown in artificial broth and infant milk formula on plastic surface. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 15 (4), pp: 311-319.

Okorie, P.Ch., Olasupo, N.A., Anike, F.N., Elemo, G.N. e Isikhuemhen, O.S. (2017). Incidence of enteric pathogens in ugba, a traditional fermented food from African oil bean seeds (*Pentaclethra macrophylla*). *International Journal of Food Contamination*, 4: 12.

Oliveira, M., Ferreira, V., Magalhães, R. y Teixeira, P. (2018). Biocontrol strategies for Mediterranean-style fermented sausages. *Food Research International*, 103, pp: 438-449.

Oliwa-Stasiak, K., Molnar, C.I., Arshak, K., Bartoszcze, M. y Adley, C.C. (2010). Development of a PCR assay for identification of the *Bacillus* cereus group species. *Journal of Applied Microbiology*, 108 (1), pp: 266-273.

OMS (2020). Organización Mundial de la Salud. *Campylobacter*. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter [acceso: 28-06-22].

OMS (2022). Organización Mundial de la Salud. Breastfeeding. Disponible en: https://www.who.int/health-topics/breastfeeding#tab=tab_1 [acceso: 28-06-22].

Oporto, B., Esteban, J.I., Aduriz, G., Juste, R.A. y Hurtado, A. (2007). Prevalence and strain diversity of thermophilic campylobacters in cattle, sheep and swine farms. *Journal of Applied Microbiology*, 103 (4), pp: 977-984.

Oren, A. y Garrity, G.M. (2014). Proposal to change General Consideration 5 and Principle 2 of the International Code of Nomenclature of Prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, pp: 309-310.

Otero, V. (2014). Incidencia, comportamiento y control de tipos patógenos de *Escherichia coli* (STEC y EPEC) en leche y queso de oveja [tesis doctoral]. Universidad de León. Disponible en: https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/3670/tesis_b37a5d.PDF?sequence=1&isAllowed=y [acceso: 28-06-22].

Park, S. y Sauer, K. (2021). SagS and its unorthodox contributions to *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Biofilm*, 3: 100059.

Passet, V. y Brisse, S. (2015). Association of tellurite resistance with hypervirulent clonal groups of *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 53, pp: 1380-1382.

Patrick, M.E., Mahon, B.E., Greene, S.A., Rounds, J., Cronquist, A., Wymore, K., Boothe, E., Lathrop, S., Palmer, A.

y Bowen, A. (2014). Incidence of *Cronobacter* spp. infections, United States, 2003-2009. *Emerging Infectious Diseases*, 20 (9), pp: 1520-1523.

Pei, X.Y., Yan, L., Zhu, J.H., Li, N., Guo, Y.C., Fu, P., Jia, H.Y., Zhang, X.L., Yang, X.R. y Yang, D.J. (2016). The survey of *Cronobacter* spp. (formerly *Enterobacter sakazakii*) in infant and follow-up powdered formula in China in 2012. *Biomedical and Environmental Sciences*, 29 (2), pp: 99-106.

Pendleton, J.N., Gorman, S.P. y Gilmore, B.F. (2013). Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 11 (3), pp: 297-308.

Peng, K., Wang, Q., Yin, Y., Li, Y., Liu, Y., Wang, M., Qin, S., Wang, Z. y Li, R. (2021). Plasmids shape the current prevalence of tmexCD1-toprJ1 among *Klebsiella pneumoniae* in food production chains. *mSystems*, 6: e00702-21.

Peña, C., Suarez, C., Ocampo-Sosa, A., Murillas, J., Almirante, B., Pomar, V., Aguilar, M., Granados, A., Calbo, E., Rodríguez-Baño, J., Rodríguez, F. Tubau, F. Oliver, A. y Martínez-Martínez, L. (2013). Effect of adequate single-drug versus combination antimicrobial therapy on mortality in *Psudomonas aeruginosa* bloodstream infections. A post hoc analysis of a prospective cohort. *Clinical Infectious Diseases*, 57 (2), pp: 208-216.

Pina-Pérez, M.C., Rodrigo, D. y Martínez, A. (2016). Nonthermal inactivation of *Cronobacter sakazakii* in infant formula milk: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56 (10), pp: 1620-1629.

Projahn, M., Von Tippelskirch, P., Semmler, T., Guenther, S., Alter, T. y Roesler, U. (2019). Contamination of chicken meat with extended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* during scalding and defeathering of broiler carcasses. *Food Microbiology*, 77, pp: 185-191.

Proudy, I., Bougle, D., Leclercq, R. y Vergnaud, M. (2008). Tracing of *Enterobacter sakazakii* isolates in infant milk formula processing by BOX-PCR genotyping. *Journal of Applied Microbiology*, 105 (2), pp: 550-558.

Rabêlo, C.A., Ricardo, M., Porfirio, J.A., Pimentel, T.C., do Santos Nascimento, J. y de Costa Oliveira, L.E. (2021). Psychrotrophic bacteria in Brazilian organic dairy products: Identification, production of deteriorating enzymes and biofilm formation. *Food Science & Technology*, *Campinas*, 41 (3), pp: 799-806.

Rafel, R., Hamze, M., Pallhories, H., Eveillard, M., Marsollier, L., Joly-Guillou, M.L., Dabboussi, F. y Kempf, M. (2015). Extrahuman Epidemiology of *Acinetobacter baumannii* in Lebanon. *Applied and Environmental Microbiology*, 81 (7), pp: 2359-2367.

Raimondi, S., Spampinato, G., Macavei, L.I., Lugli, L., Candeliere, F., Rossi, M., Maistrello, L. y Amaretti, A. (2020). Effect of Rearing Temperature on Growth and Microbiota Composition of *Hermetia illucens*. *Microorganisms*, 8 (6): 902.

Rangaraju, V., Malla, B.A., Milton, A.A.P., Madesh, A., Madhukar, K.B., Kadwalia, A., Vinodhkumar, O.R, Kumar, M.S. y Dubal, Z.B. (2022). Occurrence, antimicrobial resistance and virulence properties of thermophilic *Campylobacter coli* originating from two different poultry settings. *Gene Reports*, 27: 101618.

Rey, J., Sánchez, S., Blanco, J.E., Hermoso de Mendoza, J., Hermoso de Mendoza, M., García, A., Gil, C., Tejero, N., Rubio, R. y Alonso, J.M. (2006). Prevalence, serotypes and virulence genes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from ovine and caprine milk and other dairy products in Spain. *International Journal of Food Microbiology*, 107, pp: 212-217.

Rios, E.A. (2018). Incidencia y control de tipos patógenos de *Escherichia coli* (STEC y EPEC) en leche de vaca y quesos derivados en Castilla y León [tesis doctoral]. Universidad de León. Disponible en: https://buleria.unileon.es/handle/10612/7957 [acceso: 28-06-22].

Rishi, A., Huff, K., Han, S., Mai, T., Zhao, Y., Jang, Y., Lorr, J. y Samadpour, M. (2021). Validation of the Atlas™ *Campylobacter* Detection Assay: AOAC Performance Tested Method SM 032101. *Journal of AOAC International*, 104 (6), pp: 1620-1633.

Rodrigues, C., Hauser, K., Cahill, N., Ligowska-Marzeta, M., Centorotola, G., Cornacchia, A., García Fierro, R., Haenni, M., Møller Nielsen, E., Piveteau, P., Barbier, E., Morris, D., Pomillo, F. y Brisse, S. (2022). High Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* in European Food Products: a Multicentric Study comparing Culture and Molecular detection Methods. *Microbiology Spectrum*, 10 (1): e02376-21.

Rodrigues, C., Passet, V., Rakotondrasoa, A. y Brisse, S. (2018). Identification of *Klebsiella pneumoniae*, *Kleb-*

siella quasipneumoniae, *Klebsiella variicola* and Related Phylogroups by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Frontiers in Microbiology*, 9: 3000.

Rónai, Z. y Egyed, L. (2020). Survival of Tick-Borne Encephalitis Virus in Goat Cheese and milk. *Food and Enverionmental Virology*, 12, pp: 264-268.

Ruiz-Roldán, L., Rojo-Bezares, B., Lozano, C., López, M., Chichón, G., Torres, C. y Sáenz, Y. (2021). Occurrence of *Pseudomonas* spp. in Raw Vegetables: Molecular and Phenotypical Analysis of Their Antimicrobial Resistance and Virulence-Related Traits. *International Journal of Molecular Sciences*, 22: 12626.

Russo, A., Gavaruzzi, F., Ceccarelli, G., Borrazzo, C., Oliva, A., Alessandri, F., Magnanimi, E., Pugliese, F. y Venditti, M. (2022). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in COVID-19 patients hospitalized in intensive care unit. *Infection*, 50, pp: 83-92.

Sabota, J.M., Hoppes, W.L., Ziiegler, J.R., DuPont, J., Mathewson, J. y Rutecki, G.W. (1998). A new variant of food poisoning: enteroinvasive *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* sepsis from a contaminated hamburger. *American Journal of Gastroenterology*, 93 (1), pp: 118-119.

Sánchez, S., García Cenoz, M., Martín, C., Beristain, X., Llorente, M.T. y Herrera-León, S. (2014). Cluster investigation of mixed O76:H9 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and atypical enteropathogenic *E. coli* infection in a Spanish household. *Epidemiology and Infection*, 142, pp: 1029-1033.

Sánchez, S., Martínez, R., Rey, J., García, A., Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J.E., Mora, A., Herrera-León, S., Echeita, A. y Alonso, J.M. (2010). Pheno-genotypic characterisation of *Escherichia coli* O157:H7 isolates from domestic and wild ruminants. *Veterinary Microbiology*, 142 (3-4), pp: 445-449.

Sani, N.A. y Odeyemi, O.A. (2015). Occurrence and prevalence of *Cronobacter* spp. in plant and animal derived food sources: a systematic review and meta-analysis. *SpringerPlus*, 4: 545.

Schaber, J.A., Carty, N.L., McDonald, N.A., Graham, E.D., Cheluvappa, R., Griswold, J.A. y Hamood, A.N. (2004). Analysis of quorum sensing-deficient clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Medical Microbiology*, 53, pp: 841-853.

Schwaiger, K., Hölzel, C.H. y Bauer, J. (2011). Detection of the macrolide-efflux protein A gene mef(A) in *Enterococcus faecalis*. *Microbial Drug Resistance*, 17 (3), pp: 429-432.

Soliman, A.M., Nariya, H., Tanaka, D., Yu, L., Hisatsune, J., Kayama, S., Kondo, K., Sugai, M., Shimamoto, T. y Shimamoto, T. (2021). Vegetable derived carbapenemase-producing high-risk *Klebsiella pneumoniae* ST15 and *Acinetobacter baumannii* ST2 clones in Japan: coexistence of blaNDM-1, blaOXA-66, blaOXA-72, and an AbaR4-like resistance island in the same sample. *Applied and Environmental Microbiology*, 87: e02166-20.

Sordé, R., Pahissa, A. y Rello, J. (2011). Management of refractory *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Infection and Drug Resistance*, 4, pp: 31-41.

Souli, M., Galani, I. y Giamarellou, H. (2008). Emergence of Extensively Drug-Resistant and pandrug-resistant Gram-Negative Bacilli in Europe. *Eurosurveillance*, 13 (47): 19045.

Stephan, R., Grim, C.J., Gopinath, G.R., Mammel, M.K., Sathyamoorthy, V., Trach, L.H., Chase, H.R., Fanning, S. y Tall, B.D. (2014). Re-examination of the taxonomic status of *Enterobacter helveticus*, *Enterobacter pulveris* and *Enterobacter turicensis* as members of the genus *Cronobacter* and their reclassification in the genera *Franconibacter* gen. nov. and *Siccibacter* gen. nov. as *Franconibacter helveticus* comb. nov., *Franconibacter pulveris* comb. nov. and *Siccibacter turicensis* comb. nov., respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64 (10), pp: 3402-3410.

Stingl, K., Heise, J., Thieck, M., Wulsten, I.F., Pacholewicz, E., Iwobi, A.N., ... y Huber, I. (2021). Challenging the "gold standard" of colony-forming units-Validation of a multiplex real-time PCR for quantification of viable *Campylobacter* spp. in meat rinses. *International Journal of Food Microbiology*, 359: 109417.

Strydom, A., Cawthorn, D.M., Cameron, M. y Witthuhn, R.C. (2012). Species of *Cronobacter* - a review of recent advances in the genus and their significance in infant formula milk. *International Dairy Journal*, 27, pp: 3-12.

Strysko, J., Cope, J.R., Martin, H., Tarr, C. y Bowen, A. (2020). Food safety and invasive *Cronobacter* infections

during early infancy, 1961–2018. *Emerging Infectious Diseases*, 26 (5), pp: 857-865.

Tang, Y., Ali, Z., Zou, J., Jin, G., Zhu, J., Yang, J. y Dai, J. (2017). Detection methods for: *Pseudomonas aeruginosa*: history and future perspective. *RSC Advances*, 7: 1789e51800.

Tavakol, M., Momtaz, H., Mohajen, P., Shokoohizadez, L. y Tajbakhsh, E. (2018). Genotyping and distribution of putative virulence factors and antibiotic resistance genes of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from raw meat. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 7: 120.

Thi, M.T.T., Wibowo, D. y Rehm, B.H.A. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, pp: 1-25.

Toh, B.E.W., Paterson, D.L., Kamolvit, W., Zowawi, H., Kwaskoff, D., Sidjabat, H., Wailan, A., Peleg, A.Y. y Huber, Ch.A. (2015). Species identification within *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex using MALDI-TOF MS. *Journal of Microbiological Methods*, 118, pp: 128-132.

Truchado, P., Gil, M.I., López, C., Garre, A., López-Aragón, R.F., Böhme, K. y Allende, A. (2021). New standards at European Union level on water reuse for agricultural irrigation: Are the Spanish wastewater treatment plants ready to produce and distribute reclaimed water within the minimum quality requirements? *International Journal of Food Microbiology*, 356: 109352.

UE (2003). Directiva 2003/99/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de noviembre de 2003, sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos y por la que se modifica la Decisión 90/424/CEE del Consejo y se deroga la Directiva 92/117/CEE del Consejo. DO L 325, de 12 de diciembre de 2003, pp: 31-40.

Umezawa, K., Asai, S., Ohshima, B., Iwashita, H., Ohashi, M., Sasaki, M., Kaneko, A., Inokuschi, S. y Miyachi, H. (2015). Outbreak of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ST219 caused by oral care using tap water from contaminated hand hygiene sinks as a reservoir. *American Journal of Infection Control*, 43, pp: 1249-1251.

Valentini, M., González, D., Mavridou, D.A. y Filloux, A. (2018). Lifestyle transitions and adaptative pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Opinion in Microbiology*, 41, pp: 15-20.

Van del Kolk, J.H., Endimiani, A., Graubner, C., Gerber, V. y Perreten, V. (2019). *Acinetobacter* in veterinary medicine with an emphasis on *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 16, pp: 59-71.

Van der Plas, M.J., Bhongir, R.K., Kjellström, S., Siller, H., Kasetty, G., Mörgelin, M. y Schmidtchen A. (2016). *Pseudomonas aeruginosa* elastase cleaves a C-terminal peptide from human thrombin that inhibits host inflammatory responses. *Nature Communications*, 7: 11567.

Van Kregten, E., Westerdaal, N.A.C. y Willers, J.M.N. (1984). New, simple medium for selective recovery of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* from human feces. *Journal of Clinical Microbiology*, 20, pp: 936-941.

Van Loon, K., Voor in't holt, A. y Vos, M.C. (2018). A Systematic Review and Meta-analyses of the Clinical Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62 (1): e01730-17.

Vasconcellos, L., Carvalhob, C.T., Tavares, R.O., Medeiros, V.M., Rosas, C.O., Silvaa, J.N., Lopes, S.M.R., Forsythed, S.J. y Brandão, M.L.L. (2018). Isolation, molecular and phenotypic characterization of *Cronobacter* spp. in ready-to-eat salads and foods from Japanese cuisine commercialized in Brazil. *Food Research International*, 107, pp: 353-359.

Vaz-Moreira, I., Nunes, O.C. y Manaia, C.M. (2017). Ubiquitous and persistent proteobacteria and other gram-negative bacteria in drinking water. *Science of Total Environment*, 586, pp: 1141-1149.

Vojkovska, H., Karpiskova, R., Orieskova, M. y Drahovska, H. (2016). Characterization of *Cronobacter* spp. isolated from food of plant origin and environmental samples collected from farms and from supermarkets in the Czech Republic. *International Journal of Food Microbiology*, 217, pp: 130-136.

Walia, K. y Farber, J.M. (2018) Qualitative risk assessment of cricket powder to be used to treat undernutrition in infants and children in Cambodia. *Food Control*, 92, pp: 169-182.

Wallenhammar, A., Lindqvist, R., Asghar, N., Gunaltay, S., Fredlund, H., Davidsson, Å., Andersson, S., Överby, A.K. y Johansson, M. (2020). Revealing new tick-borne encephalitis virus foci by screening antibodies in sheep milk. *Parasites Vectors*, 13: 185.

Wang, L., Liu, T., Liu, L., Liu, U.Y. y Wu, X. (2022a). Impacts of chitosan nanoemulsions with thymol or thyme essential oil on volatile compounds and microbial diversity of refrigerated pork meat. *Meat Science*, 185, 108706.

Wang, Y., Wang, Z., Han, Q., Xie, Y., Zhou, H., Zhou, K., Li, X. y Xu, B. (2022b). Comprehensive insights into the evolution of microbiological and metabolic characteristics of the fat portion during the processing of traditional Chinese bacon. *Food Research International*, 155: 110987.

Weiser, R., Donoghue, D., Weightman, A. y Mahenthiralingam, E. (2014). Evaluation of five selective media for the detection of *Pseudomonas aeruginosa* using a strain panel from clinical, environmental and industrial sources, *Journal of Microbiological Methods*, 99, pp: 8-14.

Wright, C., Kominos, S.D. y Yee, R.B. (1976). *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* recovered from vegetable salads. *Applied and Environmental Microbiology*, 31 (3), pp: 453-454.

Wu, M. y Li, X. (2015). Chapter 87 - *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Medical Microbiology* (Second Edition), 3, pp: 1547-1564.

Wu, N., Dai, J., Gou, M., Li, J., Zhou, X., Li, F., Gao, Y., Qu, H., Lu, H., Jin, J., Li, T., Shi, L., Wu, Q., Tan, R., Zhu, M., Yang, L., Ling, Y., Xing, S., Zhang, J., Yao, B., Le, S., Gu, J., Qin, J., Li, J., Cheng, M., Tan, D., Li, L., Zhang, Y., Zhu, Z., Cai, J., Song, Z., Guo, X., Chen, Li-K. y Zhu, T. (2021). Pre-optimized phage therapy on secondary *Acinetobacter baumannii* infection in four critical COVID-19 patients. *Emerging Microbes & Infections*, 10 (1), pp: 612-618.

Wynants, E., Crauwels, S., Verreth, C., Gianotten, N., Lievens, B., Claes, J. y Van Campenhout, L. (2018). Microbial dynamics during production of lesser mealworms (*Alphitobius diaperinus*) for human consumption at industrial scale. *Food Microbiology*, 70, pp: 181-191.

Wynants, E., Frooninckx, L., Crauwels, S., Verreth, C., De Smet, J., Sandrock, C., Wohlfahrt, J., Van Schelt, J., Depraetere, S. y Lievens, B. (2019). Assessing the Microbiota of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) Reared on Organic Waste Streams on Four Different Locations at Laboratory and Large Scale. *Microbial Ecology*, 77 (4), pp: 913-930.

Wyres, K.L., Lam, M.M.C. y Holt, K.E. (2020). Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nature Reviews Microbiology*, 18 (6), pp: 344-359.

Xu, J.G., Huang, X.N., Meng, J., Chen, J.Y. y Han, B.Z. (2022). Characterization and comparison of the bacterial community on environmental surfaces through a fresh-cut vegetables processing line in China. *Food Research International*, 155: 111075.

Zhang, R., Wang, Y., Liu, Z., Li, J., Yin, W., Lei, L., Wu, C. y Shen, J. (2015). Characterization of NDM-1-producing carbapenemase in *Acinetobacter* spp and *E. coli* isolates from diseased pigs. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 2 (3), pp: 223-229.

Zhang, S., Xu, X., Wu, Q. y Zhang, J. (2013). Rapid and sensitive detection of *Pseudomonas aeruginosa* in bottled water by loop-mediated isothermal amplification. *European Food Research and Technology*, 236, pp: 209-215.

Zhang, S., Yang, G., Ye, Q., Wu, Q., Zhang, J. y Huang, Y. (2018). Phenotypic and Genotypic Characterization of *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Retail Foods in China. *Frontiers in Microbiology*, 9: 289.

Zhu, J., Wang, T., Liang, C. y Du, H. (2021). Virulence Factors in Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Microbiology*, 12: 642484.

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre el establecimiento de fecha de consumo preferente en carne congelada en establecimientos de comercio al por menor

Número de referencia: AESAN-2022-009

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 20 de septiembre de 2022

Grupo de trabajo

Antonio Valero Díaz (Coordinador), Carlos Alonso Calleja, Pablo Fernández Escámez, Carlos Manuel Franco Abuín, Sonia Marín Sillué y Gloria Sánchez Moragas

Comité Científico

Carlos Alonso Calleja
Universidad de León

Carlos M. Franco Abuín
Universidade de Santiago de Compostela

Sonia Marín Sillué
Universitat de Lleida

Magdalena Rafecas Martínez
Universitat de Barcelona

Houda Berrada Ramdani
Universitat de València

Ángel Gil Izquierdo
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Francisco J. Morales Navas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

María del Carmen Recio Iglesias
Universitat de València

Irene Bretón Lesmes
Hospital Gregorio Marañón de Madrid

María José González Muñoz
Universidad de Alcalá de Henares

Victoria Moreno Arribas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Ana María Rivas Velasco
Universidad de Granada

Araceli Díaz Perales
Universidad Politécnica de Madrid

Isabel Hernando Hernando
Universitat Politècnica de València

Silvia Pichardo Sánchez
Universidad de Sevilla

Gloria Sánchez Moragas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Pablo Fernández Escámez
Universidad Politécnica de Cartagena

Esther López García
Universidad Autónoma de Madrid

María del Puy Portillo Baquedano
Universidad del País Vasco

Antonio Valero Díaz
Universidad de Córdoba

Secretario técnico
Vicente Calderón Pascual

Gestión técnica del informe AESAN: Paula Arrabal Durán

Resumen

El Reglamento Delegado (UE) 2021/1374, que modifica el Reglamento (CE) Nº 853/2004 sobre requisitos específicos de higiene de los alimentos de origen animal, introduce la posibilidad de que los operadores de empresa alimentaria que lleven a cabo una actividad de venta al por menor puedan congelar carne con destino a la donación de alimentos. Por otra parte, actualmente en España el Real Decreto 1376/2003 prohíbe la descongelación, la recongelación y la congelación de las carnes y derivados cárnicos en los establecimientos de venta al por menor. Sin embargo, se está tramitando un proyecto de Real Decreto por el que se regulan determinados requisitos en materia de

higiene de la producción y comercialización de los productos alimenticios en establecimientos de comercio al por menor, que va a derogar esta norma y va a establecer las condiciones en las que se va a poder congelar carne.

A la hora de poder permitirse la congelación de la carne con fines diferentes a la donación (inmediatamente tras su recepción o inmediatamente tras el periodo de maduración), los operadores de dichos establecimientos deberán establecer un periodo de vida útil. La realización de estudios de vida útil puede resultar compleja y costosa, por lo que, para facilitar esta tarea a los operadores, y además orientar a las autoridades competentes encargadas del control oficial, el Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) ha proporcionado unas orientaciones acerca del periodo vida útil para la carne, con el objetivo de poder establecer una fecha de consumo preferente.

Los procesos de congelación y descongelación de la carne producen modificaciones de los parámetros de naturaleza microbiológica, fisicoquímica y sensorial, afectando directamente a su vida útil. Tras la revisión de la literatura científica existente y de las recomendaciones de diferentes instituciones, se proponen una serie de orientaciones sobre posibles fechas de consumo preferente para carne congelada según la especie:

- Vacuno: 12 meses a -18 ºC, congelando inmediatamente tras la recepción. Los tratamientos de maduración recomendados son 14 días a <2 ºC, seguido de una congelación de 9 meses a -18 ºC.
- Ovino: 12 meses a -18 ºC, congelando inmediatamente tras la recepción. Los tratamientos de maduración recomendados son 14 días a -1,5 ºC, seguido de una congelación de 9 meses a -18 ºC.
- Caprino: el almacenamiento en refrigeración recomendado puede ser de entre 3-5 días a 4,44 ºC, o bien en congelación durante 12 meses a -18 ºC.
- Porcino: 6 meses a -18 ºC, congelando inmediatamente tras la recepción. No se han encontrado estudios concluyentes sobre el periodo de maduración previo a la congelación.
- Ave: 12 y 9 meses a -18 ºC para productos enteros y despiezados, respectivamente, congelando inmediatamente tras la recepción. El periodo de maduración previo recomendado es de 9 días a < -1 ºC.
- Conejo: dada la escasa información al respecto, no es posible establecer una recomendación a nivel global que pueda ser aplicable a este tipo de carne.

En cuanto a la descongelación, se recomienda hacerlo en refrigeración, tras lo cual la carne debe guardarse refrigerada y consumirse en el menor tiempo posible. Si no es posible, se puede descongelar en un microondas, o bien pasándola por agua fría, en cuyo caso debe ser cocinada inmediatamente después.

Por último, hay que tener en cuenta que, en el suministro y venta de carne congelada por parte de los establecimientos minoristas, es imprescindible cumplir con unas buenas prácticas de higiene y manipulación.

Palabras clave

Carne congelada, congelación, vida útil, fecha de consumo preferente, establecimiento de comercio al por menor, maduración.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the determination of the date of minimum durability for frozen meat in retail establishments

Abstract

Delegated Regulation (EU) 2021/1374, which amends Regulation (EC) No. 853/2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin, introduces the possibility for food business operators carrying out a retail activity to freeze meat for food donation purposes. Furthermore, Royal Decree 1376/2003 currently prohibits thawing, refreezing and freezing of meat and meat derivatives in retail establishments in Spain. However, a draft Royal Decree is currently being processed to regulate certain hygiene requirements for the production and marketing of food products in retail establishments, which will repeal this regulation and establish the conditions under which meat can be frozen.

In order to allow meat to be frozen for purposes other than donation (immediately upon receipt or immediately after a maturation period), operators of such establishments must establish its shelf-life. Carrying out shelf-life studies can be complex and costly, so, in order to facilitate this task for operators, as well as to guide the competent authorities in charge of official control, the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) has provided guidelines on the shelf-life period for meat, with the aim of being able to establish a date of minimum durability.

Meat freezing and thawing processes produce changes in microbiological, physicochemical and sensory parameters, directly affecting its shelf-life. Following the review of existing scientific literature and recommendations of different institutions, a series of guidelines are proposed on possible date of minimum durability for frozen meat depending on the species:

- Beef: 12 months at -18 ºC, freezing immediately upon receipt. Recommended maturation treatments are 14 days at <2 ºC, followed by a 9-month freeze at -18 ºC.
- Sheep: 12 months at -18 ºC, freezing immediately upon receipt. The recommended maturation treatments are 14 days at -1.5 ºC, followed by a 9-month freeze at -18 ºC.
- Goat: the recommended refrigeration storage can be between 3-5 days at 4.44 ºC, or frozen for 12 months at -18 ºC.
- Porcine: 6 months at -18 ºC, freezing immediately upon receipt. No conclusive studies on the maturation period prior to freezing have been found.
- Poultry: 12 and 9 months at -18 ºC for whole and cut products, respectively, freezing immediately upon receipt. The recommended prior maturation period is 9 days at < -1 ºC.
- Rabbit: given the limited information available, it is not possible to establish a global recommendation applicable to this type of meat.

As for thawing, it is recommended to do it under refrigeration, after which the meat must be kept refrigerated and consumed in the shortest possible time. If this is not possible, it can be defrosted in a microwave or by passing it through cold water, in which case it must be cooked immediately afterwards.

Finally, it should be kept in mind that, in the supply and sale of frozen meat by retail establishments, it is essential to comply with good hygiene and handling practices.

Key words

Frozen meat, freezing, shelf-life, date of minimum durability, retail establishment, maturation.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo) Valero, A., Alonso, C., Fernández, P., Franco, C.M., Marín, S. y Sánchez, G. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre el establecimiento de fecha de consumo preferente en carne congelada en establecimientos de comercio al por menor. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2022, 36, pp: 209-236.

1. Introducción

El Reglamento Delegado (UE) 2021/1374 de la Comisión de 12 de abril de 2021 que modifica el anexo III del Reglamento (CE) Nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre requisitos específicos de higiene de los alimentos de origen animal (UE, 2021), introduce la posibilidad de que los operadores de empresa alimentaria que lleven a cabo una actividad de venta al por menor puedan congelar carne con destino a la donación de alimentos. Para ello deben cumplir las condiciones siguientes:

a) en el caso de la carne a la que se aplique una fecha de caducidad de conformidad con el artículo 24 del Reglamento (UE) Nº 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo (UE, 2011), antes del vencimiento de dicha fecha,
b) sin demora injustificada, a una temperatura igual o inferior a -18 °C,
c) asegurándose de que la fecha de congelación esté documentada y se indique en la etiqueta o por otros medios,
d) exceptuando la carne que haya sido congelada previamente (carne descongelada), y
e) respetando cualquier condición establecida por las autoridades competentes para la congelación y el uso ulterior como alimento.

Por otra parte, actualmente en España el Real Decreto 1376/2003, de 7 de noviembre, por el que se establecen las condiciones sanitarias de producción, almacenamiento y comercialización de las carnes frescas y sus derivados en los establecimientos de comercio al por menor, prohíbe la descongelación, la recongelación y la congelación de las carnes y derivados cárnicos en los establecimientos de venta al por menor (BOE, 2003). Sin embargo, se está tramitando un proyecto de Real Decreto por el que se regulan determinados requisitos en materia de higiene de la producción y comercialización de los productos alimenticios en establecimientos de comercio al por menor, que va a derogar esta norma y va a establecer las condiciones en las que los establecimientos de comercio al por menor van a poder congelar carne. En concreto, está previsto que disponga que, en el caso de la carne fresca, se deberá congelar inmediatamente tras su recepción o inmediatamente tras finalizar el periodo de maduración, salvo que vaya a destinarse a la donación, en cuyo caso se regirá por lo establecido en el punto 4 del capítulo VII de la sección I y en el punto 5 del capítulo V de la sección II del anexo III del Reglamento (CE) Nº 853/2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004 (UE, 2004). No podrá venderse descongelada. Hay que tener en cuenta que, una vez se congele la carne, el operador del establecimiento de comercio al por menor deberá establecer la vida útil de la misma.

La realización de estudios de vida útil puede resultar compleja y costosa para establecimientos de comercio al por menor, que a menudo son de muy pequeña dimensión y no pueden afrontar su realización. Para facilitarles esta tarea a los operadores, de manera que cuenten con una orientación sobre la vida útil de los productos congelados, se favorezca la donación de carne congelada y se reduzca el desperdicio, se solicita el presente informe. De manera paralela servirá de orientación a las autoridades competentes encargadas del control oficial de estos establecimientos, para valorar si la vida útil establecida para la carne congelada es adecuada.

Con el fin de establecer una fecha de consumo preferente, se solicita, por tanto, al Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) un informe en el que se proporcione una orientación acerca de la vida útil para la carne de vacuno, ovino, caprino, porcino, aves de corral y lagomorfos congelada en establecimientos de comercio al por menor, teniendo en cuenta, si se considera relevante, que el momento de congelación puede ser inmediatamente tras su recepción, inmediatamente tras finalizar el periodo de maduración o más adelante en el caso de las donaciones.

2. Sistemas de Gestión de la Seguridad Alimentaria en establecimientos de comercio al por menor

Actualmente, la legislación europea en materia de seguridad alimentaria obliga a los explotadores de las empresas alimentarias a desarrollar e implementar los conocidos Sistemas de Gestión de la Seguridad Alimentaria (SGSA), los cuales incluyen los Planes y Programas de Prerrequisitos (PPR) y el Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico (APPCC). En el caso de los establecimientos minoristas, supermercados, restaurantes o centros de donación de alimentos, se ha reportado la dificultad que puede suponer el seguimiento de este tipo de sistemas. Por ello, la Comisión Europea solicitó inicialmente a la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) que formulase recomendaciones sobre enfoques de análisis de peligros para los establecimientos minoristas. La EFSA aprobó dos dictámenes, por un lado, centrado en las carnicerías, tiendas de comestibles, panaderías, pescaderías y heladerías (EFSA, 2017a), y por otro, en centros de distribución, supermercados y restaurantes y en centros de donación de alimentos (EFSA, 2018). A través de las Opiniones publicadas por EFSA, se propuso un enfoque simplificado de gestión basado en la descripción de los diagramas de flujo de los procesos de elaboración y en la evolución de los potenciales peligros de naturaleza física, química o biológica a lo largo de la vida útil.

A nivel nacional, en relación con el sector cárnico, una de las principales disposiciones legislativas es el Real Decreto 1376/2003 (BOE, 2003). Dentro del capítulo II acerca de las condiciones de manipulación, almacenamiento, conservación, transporte y venta de carnes y derivados cárnicos, se prohíbe la descongelación, recongelación y congelación de carnes en los establecimientos regulados a tal efecto. En dicha normativa, solo se permite congelar aquellos derivados cárnicos elaborados que lo precisen, a una temperatura inferior a -18 ºC.

En la última disposición publicada, el Reglamento Delegado (UE) 2021/1374 (UE, 2021), se reconoce que la congelación de alimentos puede ser un medio importante para la reducción del desperdicio alimentario y para garantizar una redistribución segura por los bancos de alimentos y otras organizaciones benéficas. Por ello, se permite la congelación de la carne con un fin destinado a donación, bajo los requerimientos especificados en el apartado de la introducción.

A la hora de poder permitirse la congelación de la carne por parte de los establecimientos minoristas con fines diferentes a la donación (inmediatamente tras su recepción o inmediatamente tras el periodo de maduración), los operadores de dichos establecimientos deberán establecer un periodo de vida útil en base a la determinación de una serie de parámetros de calidad y seguridad alimentaria, y unas condiciones razonablemente previsibles de distribución y consumo. Los nuevos

Programas de Prerrequisitos (PPR) establecidos por EFSA (2018) en establecimientos minoristas incluyeron entre otros, el control de la vida útil, definida como el periodo de tiempo durante el cual un alimento mantiene sus características aceptables o deseables en el marco de unas condiciones de almacenamiento y manipulación específicas.

Específicamente, en el anexo III, punto 6 del Reglamento (UE) Nº 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 25 de octubre de 2011, sobre la información alimentaria facilitada al consumidor (UE, 2011), se establece que la carne o preparados cárnicos congelados deben presentar una fecha de congelación y una fecha de consumo preferente. Para los alimentos frescos, en caso de congelarlos antes de su fecha de caducidad para su posterior redistribución, las directrices de algunos Estados miembros recomiendan re-etiquetar el alimento congelado con una fecha de consumo preferente de acuerdo con los procedimientos relativos al sistema de autocontrol.

La intensidad de la aplicación de los tratamientos de congelación, y el tipo de matriz cárnica se antojan como los factores más importantes a la hora de determinar la aptitud del producto final previa al consumo. En el caso de las donaciones de alimentos, la influencia de dichos factores es aún más crítica, al aplicarse sobre productos cercanos al final del periodo de vida útil, lo cual puede comprometer su seguridad. En el presente informe se pretende dar respuesta al establecimiento de las fechas de consumo preferente de carne sometidos a congelación en establecimientos minoristas en condiciones previsibles de almacenamiento, distribución, venta y consumo.

3. Relevancia de la cadena de frío para la conservación de la carne

La carne y los productos cárnicos forman parte esencial de la dieta humana debido a su rica y variada composición nutricional tanto en macro (proteínas, lípidos), como en micronutrientes (vitaminas y minerales tales como hierro, cinc, selenio, etc.). Sin embargo, las características fisicoquímicas de la carne no procesada (pH, contenido de humedad, nutrientes), así como la actividad enzimática durante la maduración, hacen que sea un medio susceptible para el crecimiento de microorganismos alterantes y patógenos durante su almacenamiento. Por otro lado, el contenido en lípidos de algunos tipos de carnes hace que sean igualmente susceptibles a la oxidación produciéndose un deterioro de sus características sensoriales. Por ello, la conservación de la carne por medio de la refrigeración y congelación es uno de los métodos tradicionales para el aseguramiento de la calidad y extensión de la vida útil (Hammad et al., 2019).

El mantenimiento de la cadena de frío es uno de los principios esenciales en materia de higiene y seguridad alimentaria en la Unión Europea, tal y como se establece en el Reglamento (CE) Nº 853/2004 (UE, 2004). Estos requisitos deben cumplirse para todos aquellos alimentos o productos intermedios que toleren el crecimiento microbiano, con objeto de preservar la salud y seguridad de los consumidores. También cabe destacar que, según la EFSA, la cadena de frío no debe interrumpirse a lo largo de toda la cadena de distribución de carne (EFSA, 2014). Actualmente, la legislación europea establece que las temperaturas máximas de conservación de la carne refrigerada son de 4 ºC para carne de ave, 3 ºC para los despojos y de 7 ºC para el resto de las carnes.

A pesar de ello, en los distintos eslabones de la cadena de distribución, pueden producirse desviaciones de temperaturas que pueden tener un impacto significativo sobre la calidad y seguridad

de la carne. Asimismo, otros factores como las condiciones higiénicas en las operaciones de transformación en matadero, o los regímenes de tiempo y temperatura de transporte y distribución hasta el punto de venta influyen sobre el grado de contaminación microbiana y calidad de la carne (Wang et al., 2020). Es por ello por lo que el mantenimiento de una temperatura constante es fundamental para preservar la calidad y seguridad de la carne a través de unas buenas prácticas higiénicas o la utilización de tecnologías de conservación por frío que minimicen el deterioro del alimento.

La congelación de la carne con objeto de aumentar la vida útil ha sido una de las prácticas más habituales a nivel industrial y doméstico, aunque los mayores avances en las nuevas tecnologías de congelación se han llevado a cabo en los últimos años. La conservación de la carne a través de la congelación conlleva una serie de modificaciones en la fracción de agua de la carne. Dado que el agua está contenida en el interior de las fibras musculares, así como en el espacio intersticial, a medida que el agua se congela, se crean diferencias en la presión osmótica debido al aumento en la concentración de solutos, rompiendo pues el equilibrio homeostático del sistema cárnico (Lawrie, 1998). La posterior descongelación de la carne conlleva una serie de cambios que repercuten sobre la vida útil y que varían en función de la pieza cárnica, el tipo de sistema utilizado, o las combinaciones de tiempo y temperatura. La atmósfera de envasado, especialmente el envasado al vacío ayuda a minimizar el deterioro de la carne producido por la oxidación, deshidratación y quemaduras en la superficie de la carne (Muela et al., 2010). La mayor parte de los estudios se han centrado en los efectos de congelación y descongelación de la carne sobre la pérdida de agua que repercute en los parámetros de calidad, aunque otros cambios tales como la desnaturalización proteica, textura, color o modificaciones en la composición lipídica pueden verse afectados, tal y como se describirá en la siguiente sección.

4. Efecto de los tratamientos de congelación y descongelación sobre la vida útil de la carne

La vida útil de la carne está determinada normalmente por una serie de parámetros como la contaminación microbiana, pH, contenido de humedad, color, sabor/olor, textura, o valor nutricional (McMillin, 2008) (Hammad et al., 2017). Según la literatura existente, parece difícil establecer un tiempo de vida útil que sea equivalente para todas las especies debido a la gran cantidad de factores involucrados, por lo que se va a proceder a describir las principales modificaciones de los parámetros de naturaleza microbiológica, fisicoquímica y sensorial que acontecen durante los procesos de congelación y descongelación de la carne.

4.1 Modificaciones en los parámetros microbiológicos

La contaminación microbiana presente en la carne fresca se presenta en la mayoría de los casos en zonas superficiales de la carne, o tejidos adyacentes como piel o partes del animal sacrificado que hayan estado contaminadas y entrado en contacto con la carne durante las operaciones de transformación. Las fuentes de transmisión de microorganismos a la carne fresca son diversas, incluyendo el ambiente de producción, manipuladores, superficies y/o utensilios, etc. Dependiendo de las condiciones de almacenamiento y distribución, en ciertas ocasiones los microorganismos pueden migrar

desde la superficie hacia zonas interiores, pudiendo sobrevivir durante periodos de tiempo relativamente prolongados (Tozzo et al., 2018). Uno de los factores fundamentales para el control de la contaminación microbiana reside en el conocimiento de la tasa o velocidad de congelación ya que, si la bajada de temperatura sucede en un tiempo lo suficientemente corto, puede evitarse en gran medida la proliferación microbiana, tal y como apuntan algunos estudios (Lu et al., 2022).

La congelación produce una serie de daños a nivel mecánico por la formación de cristales de hielo, así como una desecación de la superficie de la carne debida a una reducción de la actividad de agua (a_w), y un deterioro oxidativo que inhibe en gran parte el desarrollo microbiano. A pesar de ello, como es sabido, los métodos tradicionales de congelación y descongelación no permiten la inactivación total de las formas viables de los microorganismos. En el caso de las esporas, la congelación suele ser menos eficiente, ya que el daño causado por la reducción de temperatura es menor. No obstante, el proceso de congelación permite mantener a los microorganismos en estado latente, ya que su actividad metabólica se ve reducida. Este hecho supone que la alteración de la carne sucede de forma más tardía, por lo que la vida útil de la carne congelada puede ser más prolongada que en el caso de la carne refrigerada. Sin embargo, durante el proceso de descongelación los microorganismos pueden reactivarse y proliferar en el alimento, especialmente si dicho proceso transcurre de forma lenta y poco uniforme, lo que hace que ciertas partes estén más expuestas al crecimiento microbiano (Löndahl y Nilaaon, 1993). De forma adicional, durante la descongelación existe una mayor disponibilidad de humedad y nutrientes producidos por la formación de exudados y que favorecen el desarrollo microbiano. Por este motivo, se hace imprescindible el mantenimiento de unas buenas prácticas higiénicas y de manipulación de la carne que va a someterse a congelación con objeto de evitar la contaminación microbiana (Pham, 2004). En virtud de lo mencionado, se puede concluir que la vida útil de la carne congelada puede verse limitada por la acción de microorganismos alterantes, y por la presencia o crecimiento de patógenos de transmisión alimentaria que pueden comprometer la seguridad de los consumidores.

4.1.1 Microorganismos alterantes

A pesar de que, como se ha comentado anteriormente, la congelación se entiende como un proceso bacteriostático, algunos estudios apuntan a que el 60 % de la carga microbiana alterante presente en la carne fresca se inactiva a temperaturas por debajo de -18 ºC (Rahman y Velez-Ruiz, 2007). La tolerancia de los microorganismos a las bajas temperaturas es variable, dependiendo del tipo, estado fisiológico y nivel poblacional. La alteración de la carne congelada se atribuye fundamentalmente a los microorganismos psicrotrofos y psicrófilos, capaces de sobrevivir y crecer a temperaturas por debajo de 0 ºC. En el caso de las bacterias, la superficie exterior de la célula proporciona diferentes niveles de protección contra la penetración de cristales de hielo. En el caso de las bacterias grampositivas, con una pared celular compuesta por 80 % de peptidoglicano, son más resistentes a la congelación que los microorganismos gramnegativos.

No obstante, los microorganismos supervivientes pueden proliferar más fácilmente durante la descongelación pudiendo alcanzar niveles similares a la carne antes de congelarse, aunque los estudios disponibles señalan resultados contradictorios. Uno de los factores más importantes es la

etapa de maduración de la carne en condiciones de refrigeración previa a la congelación de la misma. A este respecto, Vieira et al. (2009) encontraron que la carne de ternera congelada durante 90 días y previamente sometida a una maduración de entre 3-10 días, no presentó ningún tipo de alteración de tipo microbiológico. Sin embargo, sí apreciaron un crecimiento de psicrotrofos atribuido a que fueron el grupo predominante en la carne durante la descongelación (48 horas a 4 ºC). De forma similar, Greer y Murray (1991) reportaron que la fase de adaptación para el crecimiento microbiano en carne de cerdo congelada y descongelada fue inferior a la de la carne fresca, aunque en ambos casos no se apreciaron alteraciones de tipo sensorial.

En otros casos, la temperatura y tiempo de congelación no influyen significativamente en la contaminación microbiana de la carne, como así demostraron Teuteberg et al. (2021) en muestras de carne de cerdo congeladas a -18 ºC y -80 ºC, ensayando tiempos de 12 y 24 semanas. En este caso, la concentración de *Enterobacteriaceae* y aerobios mesófilos fue similar, aunque inferior a la encontrada en la carne fresca. Los mismos autores sí obtuvieron recuentos inferiores de *Enterobacteriaceae* de cerca de 1 log UFC/g en carne congelada de ave con respecto a la carne sin congelar (Kluth et al., 2021). Parece ser que otros factores ajenos a las combinaciones de tiempo y temperatura de congelación repercuten sobre la viabilidad de ciertos grupos de microorganismos alterantes en la carne, aunque si se lleva a cabo de forma correcta, sí otorga una estabilidad al producto durante un tiempo más o menos prolongado.

4.1.2 Patógenos de transmisión alimentaria

Es bien sabido que la carne constituye un medio favorable para la posible presencia y crecimiento de patógenos de transmisión alimentaria. Dependiendo del tipo de matriz, aunque microorganismos patógenos como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* y virus de la hepatitis E (VHE), entre otros, puedan sobrevivir a los tratamientos de congelación, en la mayoría de las ocasiones, la microbiota alterante inhibe su crecimiento. Por tanto, durante los tratamientos de congelación y descongelación la temperatura favorece el crecimiento de los microorganismos psicrófilos, siendo la mayoría de estas especies, alterantes. Es por ello por lo que la contaminación microbiana causada por patógenos de transmisión alimentaria sucede como consecuencia de unas inadecuadas prácticas higiénicas durante el procesado de la carne.

En el caso de la contaminación de origen vírico, recientemente se ha demostrado un aumento de la incidencia de casos de hepatitis E asociados al consumo de carne cruda o poco cocinada de cerdo y jabalí procedente de animales infectados (Kupferschmidt, 2016). No obstante, si los tratamientos tecnológicos son poco eficientes, especialmente la descongelación de la carne, puede conllevar un crecimiento microbiano o viabilidad de virus que pueda comprometer la salud pública. Para el virus de la hepatitis E, se desconoce en gran medida la eficacia de los métodos de inactivación durante el procesamiento de la carne. La falta de métodos eficientes y fáciles de usar para la determinación de la infectividad de este virus ha impedido realizar estudios de inactivación amplios. A pesar de esto, en los últimos años se han logrado avances que han conseguido mejorar la propagación del virus en cultivos celulares, aunque todavía son escasos los estudios de inacti-

vación realizados directamente en productos cárnicos. Al igual que otros virus entéricos, el virus de la hepatitis E es relativamente resistente a la congelación (EFSA, 2017b).

Los tratamientos de congelación parecen ser efectivos en la reducción de la contaminación por *Campylobacter* spp. en carne de ave y, de hecho, es una de las medidas consideradas por parte de algunos países como Islandia, y también por la EFSA (2011) para reducir la incidencia de este patógeno. Sin embargo, el impacto de la aplicación de esta medida no está del todo claro. Se conoce que un tratamiento a -20 ºC puede reducir bruscamente la concentración inicial de *Campylobacter* spp., seguido de un decrecimiento progresivo de la población durante el almacenamiento (Maziero y Oliveira, 2010).

En el caso de *L. monocytogenes*, un factor importante en la incidencia de listeriosis transmitida por alimentos es que puede crecer significativamente a temperaturas de refrigeración en comparación con otros patógenos. Se ha registrado crecimiento a temperaturas tan bajas como -1,5 ºC, aunque a un ritmo muy lento (BFFF, 2015). En el período de refrigeración previo a la congelación, Pradhan et al. (2012) ensayaron el crecimiento de *Listeria innocua* en pechugas de pollo mantenidas a 4 y 8 ºC durante 21 días, donde se observó un aumento de la población de 2,1 log UFC/g en la primera semana a 4 ºC, y después disminuyó. La tendencia fue similar a 8 ºC, donde la población aumentó 3,7 log UFC/g en 7 días, y después disminuyó. En consecuencia, para la gestión de la presencia de *L. monocytogenes* en carne congelada, será importante reducir el período en refrigeración previo a la congelación, realizar una descongelación en condiciones de máxima higiene y controlar cualquier vida útil después de la descongelación, así como el correcto cocinado. En cuanto al efecto de la congelación, *L. monocytogenes* no es capaz de crecer en carne congelada, pero sí que puede sobrevivir (Palumbo y Williams, 1991) (Chan y Wiedmann, 2009), a diferencia de lo observado en especies microbianas como *E. coli* en las que la población se reduce a lo largo de un almacenamiento prolongado en congelación (Foschino, 2002). Una vez descongelada la carne, *L. monocytogenes* puede reiniciar el crecimiento. Se ha observado que el aumento del tiempo de almacenamiento en congelación conduce a un retraso de unas pocas horas en el inicio del crecimiento posterior, posiblemente debido a un daño celular, pero la tasa de crecimiento de *L. monocytogenes* no parece verse afectada (Humblot et al., 2015). Sin embargo, Kataoka et al. (2017) encontraron que el crecimiento ocurrió sin una fase de retraso significativa tras la descongelación, por lo que el efecto de la congelación sobre el crecimiento posterior del patógeno parece estar influenciado por otros factores inherentes a la matriz cárnica.

En *Salmonella* spp. se ha descrito crecimiento a temperaturas a partir de 3,5 ºC, por lo que no prolifera a temperaturas de congelación (Matches y Liston, 2006). Existen numerosos estudios que indican que sobrevive a la congelación durante tiempos prolongados en sustratos cárnicos, como por ejemplo en pollo congelado (Domínguez y Schaffner, 2009). De hecho, se han descrito numerosos brotes de toxiinfección alimentaria en Canadá asociados a productos de ave congelados (incluidos productos empanados de pollo) entre 2015 y 2019 (Morton et al., 2019). Por tanto, no se puede considerar que la congelación contribuya al control de *Salmonella*, tan solo evita su proliferación y prolonga la vida útil del producto. Se debe controlar la temperatura previa a la congelación y durante la descongelación para evitar la proliferación de *Salmonella* y se deben aplicar adecuadas prácticas higiénicas para minimizar su presencia en las carnes que se vayan a congelar.

Otros peligros de naturaleza biológica los constituyen ciertos grupos de parásitos como *Toxoplasma*, *Trichinella*, etc., cuya presencia en la carne fresca ha sido previamente reportada (Johne et al., 2021) (Marín-García et al., 2022). En este caso, la mayor parte de los estudios hechos sobre carne congelada demuestran que su viabilidad se ve notablemente reducida a temperaturas inferiores a -12 ºC (Kotula et al., 1991), aunque en muchas ocasiones debe acompañarse de un tratamiento térmico posterior para conseguir una inactivación completa de estos microorganismos.

4.2 Modificaciones en los parámetros fisicoquímicos

Los avances en las nuevas tecnologías de congelación han hecho disminuir en gran medida las pérdidas de calidad de la carne, aunque los tratamientos de congelación y descongelación siguen produciendo una serie de cambios en los parámetros fisicoquímicos que pueden afectar a la vida útil del producto. La carne presenta agua como constituyente principal, por lo que las mayores modificaciones se producen en el contenido de humedad y capacidad de retención de agua de la carne tras la descongelación. El agua se encuentra en diversas estructuras y compartimentos de las fibras musculares. Al congelarse el agua, existe un incremento de la concentración de solutos (proteínas, hidratos de carbono, lípidos, vitaminas y minerales) que producen una disrupción en el balance bioquímico del sistema cárnico. Esta serie de cambios producen daños a nivel metabólico y celular que afectan en última instancia a la calidad de la carne. A continuación, se describen las modificaciones de los principales parámetros fisicoquímicos de la carne como consecuencia de los tratamientos de congelación y descongelación.

4.2.1 Humedad

La congelación y descongelación de la carne afecta tanto al contenido como a la distribución de la humedad en el tejido cárnico. La humedad se evalúa en función de varias medidas como la pérdida por goteo, merma de peso del producto descongelado, pérdidas por cocinado, o capacidad de retención de agua (Leygonie et al., 2012a). Durante la congelación, dado que la cristalización del agua la convierte en no disponible para reacciones, es innecesario determinar la actividad de agua, pues no depende de las sustancias disueltas sino de la temperatura solamente (Schnewberger et al., 1978).

La disminución del contenido de humedad de la carne sucede de forma irremediable tras el sacrificio del animal, debido a una bajada de pH, agotamiento de las reservas de glucógeno y ATP, así como a una desnaturalización proteica. Los tiempos de congelación y descongelación influyen sobre la cantidad de exudado por el tamaño y distribución de los cristales de hielo (Añón y Cavelo, 1980). Parece que no existe una correlación directa entre la velocidad de descongelación y la cantidad de exudado formada, aunque sí se encuentran algunas recomendaciones en la literatura científica para minimizar las pérdidas de exudado y sobre la actividad de agua (a_w) del producto descongelado. De hecho, Leygonie et al. (2012b) y Vieira et al. (2009) no encontraron diferencias significativas entre muestras de carne fresca y carne congelada sometidas a distintos tratamientos de descongelación. González-Sanguinetti et al. (1985) concluyeron que un tratamiento de descongelación de -5 ºC a -1 ºC en menos de 50 minutos podía producir una reabsorción de agua por parte

de las fibras musculares, lo que repercute en una menor pérdida de humedad. No se ha visto variación en la a_w durante el almacenamiento en congelación (Sayas-Barberá et al., 2021). Por tanto, una mayor velocidad de descongelación ayuda a minimizar las pérdidas por goteo (Ambrosiadis et al., 1994). En general, la a_w es muy elevada al finalizar la descongelación, por lo que se debe realizar correctamente para evitar la proliferación microbiológica.

4.2.2 Oxidación de lípidos y proteínas

La temperatura final a la que se congela y almacena la carne determina la cantidad de agua descongelada disponible para participar en reacciones químicas. Esta fracción es importante en términos de oxidación, ya que pueden ocurrir reacciones químicas durante el almacenamiento en congelación que inicien la oxidación primaria de lípidos (peroxidación) en la carne. Esto puede conducir a una oxidación secundaria de los lípidos tras la descongelación que están relacionados con modificaciones en los atributos sensoriales de la carne. Este fenómeno ha sido demostrado por Akamittath et al. (1990) y Hansen et al. (2004), quienes reportaron una oxidación acelerada de lípidos en carne congelada y descongelada sometida a un estudio de vida útil refrigerada.

El grado de oxidación lipídica se mide habitualmente a través de la presencia de sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (*thiobarbituric acid reactive substances*, TBARS). Estos metabolitos secundarios causan defectos en el perfil sensorial de la carne tales como rancidez, sabor graso, picante y otros sabores desagradables. Vieira et al. (2009), afirmaron que la concentración de TBARS en carne fresca fue significativamente menor que en la carne almacenada durante 90 días a -20 ºC. Benjakul y Bauer (2001) también encontraron que la congelación y descongelación del tejido muscular resultó en la acumulación acelerada de TBARS, y atribuyeron este hallazgo al daño en las membranas celulares producido por cristales de hielo y la posterior liberación de sustancias prooxidantes, especialmente el hierro hemo.

Por otro lado, la oxidación de las proteínas puede estar ligada a cualquiera de los factores prooxidantes, tales como radicales libres, pigmentos hemo o malonaldehído, que es uno de los sustratos que reacciona con las proteínas para formar carbonilos (cetonas y aldehídos) (Xiong, 2000). Por lo tanto, la oxidación de proteínas y lípidos está indudablemente interrelacionada.

La oxidación de proteínas en la carne puede conducir a una disminución de la calidad del consumo debido a la reducción de la terneza y jugosidad, deterioro del sabor y decoloración (Rowe et al., 2004). Los cambios oxidativos en las proteínas también repercuten en una menor capacidad de retención de agua y formación de exudados (Liu et al., 2010), así como en una pérdida de solubilidad.

4.2.3 Color

Los tratamientos de congelación y descongelación de la carne producen alteraciones en la estabilidad del color, dado que la mioglobina forma parte del exudado. Asimismo, está demostrado que la mioglobina sufre un proceso de desnaturalización durante la congelación y descongelación de la carne (Calvelo, 1981), lo cual incrementa la probabilidad de que sufra autooxidación que, a su vez, se manifieste en una pérdida de color de la carne. De hecho, otros estudios avalan que en carnes congeladas o maduradas sucede una mayor acumulación de metamioglobina en la superficie (Abdallh et al., 1999).

Los fenómenos de oxidación de la carne están relacionados entre sí, de forma que cuando se inicia la oxidación lipídica, se forman compuestos prooxidantes capaces de reaccionar con la oximioglobina para formar metamioglobina. Por tanto, si las reacciones de oxidación de los lípidos se ven aceleradas durante la congelación de la carne, aumentará la cantidad de radicales libres presentes que puedan producir la oxidación de la mioglobina y el deterioro del color.

4.2.4 Parámetros de textura

La textura de la carne sufre modificaciones como consecuencia de los tratamientos de congelación y descongelación. En cuanto a la terneza, se ha demostrado que está correlacionada positivamente con el tiempo de maduración de la carne previo a la congelación (Vieira et al., 2009). El mecanismo implicado en el aumento de la terneza reside en una rotura de las fibras musculares por acción enzimática, y una pérdida de integridad estructural de los tejidos causada por la formación de cristales de hielo. Hay que señalar que la textura de la carne puede diferir en función de si es medida de forma instrumental o evaluada a través de un panel sensorial (Lagersted et al., 2008). Puede ocurrir que la terneza de una carne descongelada percibida por un panel sensorial sea inferior a la medida instrumentalmente, debido a la pérdida de humedad, lo que ocasiona una menor tensión de cizallamiento (fuerza de corte) para romper la estructura de la carne (Lui et al., 2010).

4.3 Aptitud culinaria y perfil sensorial

La calidad de la carne en términos de aptitud culinaria se suele medir a través de parámetros como el color, capacidad de retención de agua, textura y palatabilidad (Miller, 2002). Según se ha descrito anteriormente, la congelación y descongelación de la carne puede conducir a una pérdida de ciertos atributos de calidad que pueden manifestarse en una menor aptitud culinaria y perfil sensorial. Las pérdidas de agua debidas al cocinado de la carne tras la descongelación se consideran en muchos estudios como un parámetro que ayuda a definir los tratamientos óptimos, y habitualmente se correlaciona una mayor pérdida de agua con un mayor tiempo de congelación y descongelación (Cho et al., 2017). Sin embargo, en otros estudios se señala que no existen unas diferencias sustanciales en las pérdidas de humedad durante el cocinado de la carne fresca en comparación con la carne congelada (Vieira et al., 2009) (Leygonie et al., 2012b). El factor asociado a las pérdidas de humedad viene dado por la región muscular presente en la carne a partir de la cual se origina dicha pérdida de humedad. Durante el cocinado, además de la humedad, tiene lugar una fusión de las grasas, así como una desnaturalización proteica, que también contribuyen a una liberación de jugos procedente del agua ligada (Vieira et al., 2009).

Por otro lado, la terneza de la carne, evaluada mediante la fuerza de corte, también se ve influenciada por los tratamientos de congelación y descongelación. En este sentido, en muchos estudios se reportan resultados contradictorios, aunque la mayoría de ellos postulan que la fuerza de corte disminuye en aquellas carnes sometidas a un tratamiento de congelación y descongelación. Los principales factores asociados se relacionan con la pérdida de agua, así como la rotura de las membranas celulares producida por los cristales de hielo durante la congelación (Lui et al., 2010).

Además de las propiedades físicas, el perfil sensorial de la carne congelada puede verse afectado por la interacción de sus componentes a través de reacciones de óxido-reducción. En la carne existen compuestos que actúan como catalizadores de estas reacciones, como el hierro o la mioglobina, así como los lípidos. La aparición de compuestos como el malonaldehído, cetonas, grupos carbonilo o radicales libres pueden alterar el perfil sensorial y la aptitud culinaria de la carne.

A pesar de que la congelación de la carne puede estar relacionada con un incremento de la oxidación lipídica, proteica y alteración sensorial de la carne, algunos estudios indican que el perfil aromático de la carne puede mejorar debido a una mayor concentración de compuestos volátiles como consecuencia de un almacenamiento en congelación durante un periodo corto de tiempo (Qi et al., 2021). En otros casos, los resultados no son suficientemente concluyentes cuando se compara con el cocinado de la carne fresca debido a que otros factores pueden ejercer una mayor influencia como el tipo de tratamiento culinario, o calidad de la materia prima, entre otros.

En la Tabla 1 se recogen algunos estudios donde se evalúan parámetros relativos al cocinado de la carne y perfil sensorial, siendo en su mayoría la pérdida de humedad, capacidad antioxidante, compuestos volátiles y textura. Estos estudios analizan tratamientos de maduración, congelación y descongelación de la carne y se reportan aquellos considerados como óptimos para la mejora de la calidad y seguridad alimentaria.

Tabla 1. Estudios relacionados con el efecto de los tratamientos de refrigeración, congelación y descongelación de la carne sobre los principales parámetros de calidad y seguridad alimentaria

Tipo de carne	Tratamientos			Parámetros			Tratamiento óptimo	Referencia
	Enfriamiento	Congelación	Descongelación	Fisicoquímicos	Microbiológicos	Sensoriales		
Vacuno (ternera)	10 días a 4 ºC	90 días a -20 ºC y a -80 ºC	48 horas a 4 ºC	Color, TBARS*, CRA*	Psicrotrofos, *Enterobacteriaceae*, BAL*	Textura, terneza, jugosidad, olor, flavor	90 días a -20 ºC (previo almacenamiento a 4 ºC por un periodo de tiempo corto)	Vieira et al. (2009)
	0-14 días a 2 ºC	0-9 meses a -18 ºC	-	Color, CRA, TBARS, NBV*, Hcocinado*	-	Textura	14 días a 2 ºC + <9 meses a -18 ºC	Cho et al. (2017)
	0-5 semanas <1 ºC	0-13 meses a -12 ºC y -18 ºC	-	Henfriamiento*, Hcocinado, color, Hdescongelación*, pH, humedad, grasa, a_w*, glucógeno	*Brochothrix thermosphacta*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, BAL	Textura	0-5 semanas a <1 ºC + 12 meses a -12 ºC o -18 ºC	Holman et al. (2017)
Ovino	-	12 meses a -18 ºC	-	Hcocinado, color, pH, TBARS	Psicrotrofos, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, coliformes	Aroma, textura, jugosidad, flavor	12 meses a -18 ºC	Fernandes et al. (2013)
	2-3 semanas a -1,5 ºC	7 semanas a -18 ºC	12 horas a -1,5 ºC	pH, color, Henfriamiento, Hcocinado	-	Apariencia, textura	2 semanas a -1,5 ºC + 7 semanas a -18 ºC	Kim et al. (2013)
	-	1-21 meses a -18 ºC	-	pH, color, TBARS, CRA	-	Textura	21 meses a -18 ºC	Muela et al. (2015)
	0-60 días a <2 ºC	0-13 meses a -12 ºC y -18 ºC	-	Color, Hdescongelación, Hcocinado, pH, a_w, humedad, glucógeno	*Brochothrix thermosphacta*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, BAL	Textura	15-30 días a <2 ºC + 12 meses a -12 ºC o -18 ºC	Coombs et al. (2017)

Tabla 1. Estudios relacionados con el efecto de los tratamientos de refrigeración, congelación y descongelación de la carne sobre los principales parámetros de calidad y seguridad alimentaria

Tipo de carne	Tratamientos			Parámetros			Tratamiento óptimo	Referencia
	Enfriamiento	Congelación	Descongelación	Fisicoquímicos	Microbiológicos	Sensoriales		
Caprino	24 horas a 4 ºC	16 semanas a -10 ºC	-	pH, CRA, TBARS, proteína	AEM*	-	24 horas a 4 ºC + 8 semanas a -10 ºC	Ahmad et al. (2017)
Porcino	16 días a 5 ºC	6 meses a -18 ºC	-	pH, NBV, TBARS, aminas biógenas	AEM, coliformes, psicrotrofos	-	8 días a 5 ºC o 90 días a -18 ºC	Custódio et al. (2018)
Porcino	-	12-24 semanas a -18 ºC y a -80 ºC	24 horas a 4 ºC	Color, Hdescongelación, pH, TBARS, humedad, Hcocinado	*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., AEM	Textura	24 semanas a -18 ºC (previa congelación rápida a -80 ºC)	Teuteberg et al. (2021)
Ave (pollo)	9 días a -1,3 ºC o 28 días a 2-4 ºC	30 días a -20 ºC	-	pH, Hcongelación*, color, humedad, TBARS	AEM, BAL	Textura	30 días a -20 ºC (el almacenamiento previo a -1,3 ºC extiende la vida útil)	Kaewthong et al. (2019)
Ave (pavo)	-	12-24 semanas a -18 ºC y a -80 ºC	24 horas a 4 ºC	Hdescongelación, Hcocinado, color, pH, a_w, TBARS	*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., AEM	Textura	24 semanas a -18 ºC o -80 ºC	Kluth et al. (2021)
Ave (pollo)	-	2-8 semanas a -18 ºC	12 horas a 10-15 ºC	Hcocinado, aminoácidos libres, nucleótidos	-	Compuestos volátiles, compuestos generadores del sabor	6 semanas a -18 ºC	Qi et al. (2021)
Conejo	36 días a -2,5 ºC o 36 días a -4 ºC o 10 días a 4 ºC	36 días a -18 ºC	12 horas a 4 ºC	pH, NBV, proteínas solubles, Hdescongelación, Hcocinado	AEM	Textura, color	20 días a -2,5 ºC o 36 días a -4 ºC o 6 días a 4 ºC + 36 días a -18 ºC	Lan et al. (2016)

a_w: actividad de agua; AEM: aerobios mesófilos; BAL: Bacterias Ácido-Lácticas; CRA: Capacidad de Retención de Agua; Hcocinado: pérdida de humedad tras el cocinado; Hcongelación: pérdida de humedad tras la congelación; Hdescongelación: pérdida de humedad tras la descongelación; Henfriamiento: pérdida de humedad tras el enfriamiento; Hrefrigeración: pérdida de humedad tras la refrigeración; NBV: Nitrógeno Básico Volátil; TBARS: sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico.

5. Orientación sobre el establecimiento de fechas de consumo preferente de la carne congelada destinada a consumo

En las secciones anteriores se han descrito los principales factores atribuidos a los tratamientos de maduración, congelación y descongelación de la carne y su impacto sobre la alteración y seguridad del producto final.

La disposición legal de directa aplicación a tener en cuenta para el comercio minorista es el Real Decreto 1376/2003 (BOE, 2003). En este Real Decreto se habla de algunos requisitos higiénicos, así como de rangos de temperaturas de almacenamiento, conservación, transporte y venta de carnes, que debe ser ≤ -12 ºC. Asimismo, el marcado de la fecha de consumo preferente es una mención obligatoria conforme al Reglamento (UE) Nº 1169/2011 (UE, 2011). El operador alimentario responsable de esta información ha de garantizar la exactitud de la misma.

Para poder dar una orientación sobre la estimación de la vida útil en congelación de la carne en los establecimientos minoristas es necesario contemplar la posibilidad de que se congele inmediatamente tras la recepción o tras un tratamiento de maduración previo.

En la literatura científica se pueden encontrar una gran cantidad de trabajos relacionados con la evaluación del impacto de tratamientos de maduración, congelación y descongelación de la carne sobre la calidad y seguridad alimentaria. En otros casos, los estudios están más dirigidos hacia la determinación de la vida útil en términos de aptitud de la carne congelada para el consumo (Tabla 1). Se conoce que la maduración de la carne produce una mejora de la terneza y capacidad de retención de agua, y su combinación con un tratamiento de congelación posterior puede ayudar a la extensión de la vida útil. En base a la información disponible, se puede concluir que existe una variabilidad en los tiempos y temperaturas de los tratamientos reportados en los diferentes estudios en función del objetivo de los mismos, tipo de carne y parámetros evaluados, así como criterios utilizados para la determinación de la aptitud de la carne. Es por ello por lo que la estimación de la vida útil a nivel global debe considerar todas estas limitaciones.

En la Tabla 2 se resumen algunas recomendaciones de tratamientos de congelación de la carne proporcionadas por diferentes instituciones a nivel nacional y mundial. Para poder responder adecuadamente al objeto del presente informe, se procederá a realizar una comparativa de toda la información disponible para poder proporcionar una orientación acerca de las fechas de consumo preferente de la carne congelada para su venta en establecimientos minoristas.

Tabla 2. Recomendaciones sobre las condiciones de almacenamiento en congelación de la carne proporcionadas por diferentes organismos a nivel mundial

Tipo de carne	Descripción	Vida útil	Organismo
Vacuno, ovino y porcino	Filetes	6-12 meses a -18 ºC	HHS-FDA (2018)
	Chuletas	4-6 meses a -18 ºC	
	Otras	3-4 meses a -18 ºC	
Ave	Pollo, pavo (entero)	12 meses a -18 ºC	
	Pollo, pavo (piezas)	9 meses a -18 ºC	
	Menudencias	3-4 meses a -18 ºC	
Vacuno	Carne picada	2-3 meses a -12 ºC o -18 ºC	PrimeSafe (2022)
Ovino		2-3 meses a -12 ºC o -18 ºC	
Porcino		2-3 meses a -12 ºC o -18 ºC	
Ave		2-3 meses a -12 ºC o -18 ºC	
Vacuno	Piezas cárnicas	8 meses a -12 ºC o 18 meses a -18 ºC	
Ovino		12 meses a -12 ºC o 18 meses a -18 ºC	
Porcino		6 meses a -12 ºC o 10 meses a -18 ºC	
Ave		9 meses a -12 ºC o 18 meses a -18 ºC	
Vacuno	Piezas cárnicas	12 meses a -18 ºC o 18 meses a -25 ºC o 24 meses a -30 ºC	FAO (1991)
Ovino		9 meses a -18 ºC o 12 meses a -25 ºC o 24 meses a -30 ºC	
Porcino		6 meses a -18 ºC o 12 meses a -25 ºC o 15 meses a -30 ºC	
Ave		12 meses a -18 ºC o 24 meses a -25 ºC o 24 meses a -30 ºC	

En el caso de la carne de vacuno, Cho et al. (2017) consideraron que un tiempo de maduración de 14 días a 2 ºC supone una mejora de la calidad de la carne, y recomiendan un tiempo de congelación inferior a 9 meses a -18 ºC. En cambio, Holman et al. (2017) reportaron tiempos superiores, de hasta 12 meses a -12 ºC o -18 ºC tras un periodo de maduración a <1 ºC durante 5 semanas. El tipo y tamaño de las piezas cárnicas evaluadas puede ser la causa de estas diferencias. En cuanto a las recomendaciones de vida útil presentadas en la Tabla 2, cabe destacar que la HHS-FDA (*United States Department of Health and Human Services-Food and Drug Administration*) divide en distintas

categorías de piezas cárnicas a las carnes de vacuno, ovino y porcino, mientras que *PrimeSafe* considera una distinción entre la carne picada y las piezas cárnicas. Tomando como referencia un almacenamiento a -18 ºC, los tiempos de almacenamiento en congelación oscilan entre los 6 y los 18 meses para las piezas cárnicas. En base a la información disponible, se puede considerar un tiempo de almacenamiento en congelación de 12 meses a -18 ºC en caso de que la carne se congele inmediatamente tras su recepción. Los tratamientos de maduración recomendados son 14 días a <2 ºC seguido de una congelación de 9 meses a -18 ºC, según el estudio de Cho et al. (2017).

Para la carne de ovino existe una mayor discrepancia en los tiempos de almacenamiento en congelación reportados en los estudios. Fernandes et al. (2013) recomendaron un tiempo de 12 meses a -18 ºC, mientras que Muela et al. (2015) argumentaron que la carne de ovino es aceptable para el consumo tras un tiempo de almacenamiento de 21 meses a -18 ºC. Las recomendaciones proporcionadas en la Tabla 2 oscilan entre 4 y 18 meses de almacenamiento a -18 ºC para las piezas de carne de ovino. Tomando estos valores recopilados, se puede recomendar un tiempo 12 meses a -18 ºC en caso de que la carne se congele inmediatamente tras su recepción. En caso de que se lleve a cabo un periodo de maduración previo, Kim et al. (2013) reportaron unos valores de 14 días a -1,5 ºC, por lo que puede considerarse como referencia seguido de un tratamiento de congelación de 9 meses a -18 ºC, en base a las recomendaciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 1991) (Tabla 2).

En cuanto a la carne de caprino, existe poca información al respecto en la literatura científica. Ahmad et al. (2017) estudiaron el efecto de la refrigeración previa a 4 ºC durante 24 horas y posterior congelación a -10 ºC durante 4 meses de diversas piezas de carne de cabra bajo condiciones de envasado en polipropileno. En su estudio se concluyó que la calidad organoléptica de la carne se mantuvo adecuadamente durante 8 semanas. A pesar de esto, existen recomendaciones proporcionadas por la USDA-FSIS (*United States Department of Agriculture-Food Safety Inspection Service*) donde estipulan unos tiempos de almacenamiento en refrigeración y congelación, así como la forma en que debe llevarse a cabo la descongelación de la carne de caprino (USDA-FSIS, 2013). El almacenamiento en refrigeración recomendado puede ser de entre 3-5 días a 4,44 ºC, o bien en congelación durante 12 meses a -18 ºC.

En el caso de la carne de porcino, Custódio et al. (2018) estudiaron el efecto de la refrigeración frente a la congelación de la carne y recomiendan una vida útil de 8 días a 5 ºC o 3 meses a -18 ºC. Estos valores son inferiores a los reportados por Teuteberg et al. (2021) quienes estimaron un tiempo de vida útil en congelación de 6 meses a -18 ºC, aunque la calidad de la carne mejoró tras una congelación rápida previa a -80 ºC. Las recomendaciones proporcionadas en la Tabla 2 oscilan entre 4 y 10 meses de almacenamiento a -18 ºC para las piezas de carne de porcino. Así pues, se puede recomendar un periodo de almacenamiento en congelación de 6 meses a -18 ºC inmediatamente tras la recepción de la carne en el establecimiento minorista. En la literatura no se han encontrado estudios concluyentes sobre el periodo de maduración de la carne de porcino previo a la congelación.

En cuanto a la carne de ave, Kluth et al. (2021) evaluaron una serie de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos sobre la calidad y seguridad de la carne de pavo, recomendando un periodo de

almacenamiento de 6 meses a -18 ºC. Qi et al. (2021) demostraron que un almacenamiento a -18 ºC durante 6 semanas conseguía una mejora de la calidad de la carne de pollo, mientras que Kaewthong et al. (2019) sugirieron un almacenamiento de 30 días a -20 ºC para la carne de pollo tras un periodo de maduración de 9 días a -1,3 ºC. En función de las recomendaciones de la HHS-FDA, se distingue entre producto entero y despiezado, siendo la vida útil de 12 y 9 meses a -18 ºC, respectivamente. Dicha recomendación de 12 meses coincide con la proporcionada por FAO y es inferior a la reportada por *PrimeSafe* (18 meses). Según la información disponible se puede establecer un tiempo de almacenamiento en congelación de 12 y 9 meses a -18 ºC para productos enteros y despiezados, respectivamente (en caso de que se lleve a cabo una congelación inmediatamente después de la recepción), así como un periodo de maduración previo de 9 días a < -1 ºC.

Para el caso de la carne de conejo existen menos estudios disponibles, aunque algunos trabajos se han centrado en la evaluación de tratamientos de super-enfriamiento y su comparación con tratamientos tradicionales de maduración y congelación de la carne. A este respecto, Lan et al. (2016) investigaron el efecto de dos tratamientos de maduración a -2,5 ºC y -4 ºC durante 36 días sobre la calidad de la carne de conejo. En dicho estudio, se recomendaron unos periodos de maduración de 20 días a -2,5 ºC y hasta de 36 días a -4 ºC seguido en ambos casos de un almacenamiento en congelación de 36 días a -18 ºC. Sin embargo, dada la escasa información al respecto, no es posible establecer una recomendación a nivel global que pueda ser aplicable a este tipo de carne.

6. Requisitos higiénicos de los establecimientos de comercio al por menor para la congelación de la carne

La Comisión Mixta FAO/OMS del *Codex Alimentarius*, entre sus diversos Códigos de Prácticas de Higiene, presenta uno relativo al sector cárnico. Se trata del Código de Prácticas de Higiene para la Carne (CXC 58-2005-CAC/RCP 58-2005), elaborado por el Comité del *Codex* sobre Higiene de las Carnes (Codex Alimentarius, 2005). Se trata de un código vertical, que abarca desde el sacrificio y matanza. En el Capítulo 9 "Control de Proceso", artículo 151, se detallan algunas pautas interesantes y fundamentales en relación con el envasado de la carne, así como la congelación de la misma.

En el suministro y venta de carne congelada por parte de los establecimientos minoristas, es imprescindible cumplir con unas buenas prácticas de higiene y manipulación. Indudablemente, algunos de los puntos indicados en el Real Decreto 1376/2003 (BOE, 2003), pueden seguirse aplicando a aquellos establecimientos de comercio al por menor que suministren carne congelada, tal y como se refleja a continuación:

- En relación con los mostradores, vitrinas y otros elementos donde se exponga la carne congelada para la venta al público, se recomienda que estén diseñados de forma que se evite cualquier tipo de contaminación.
- Por otro lado, las instalaciones frigoríficas para la conservación, en régimen de refrigeración o congelación de carne deberían contar con aparatos para la lectura y comprobación de las temperaturas de forma que se cumplan los requisitos de verificación de vida útil reflejados en el presente informe.

- Con objeto de evitar contaminaciones cruzadas, es recomendable que no se conserven en el mismo compartimento frigorífico carnes refrigeradas y congeladas, y deberá observarse en todo momento la no simultaneidad de conservación o almacenamiento de carnes frescas con otras materias primas o productos que determinen las normas sanitarias.

Además de lo señalado anteriormente, diferentes entidades y organizaciones del sector cárnico presentan guías sectoriales muy útiles como base para la implantación de un Sistema de Gestión de la Seguridad Alimentaria (SGSA, Planes y Programas de Prerrequisitos, PPR, y Plan de Seguridad o Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico, APPCC) en establecimientos cárnicos de venta al por menor, como por ejemplo la guía elaborada por la Federación Empresarial de Agroalimentación de la Comunidad Valenciana (FEDACOVA, 2012).

7. Recomendaciones generales para la descongelación de la carne

Además de lo indicado en el apartado anterior, es recomendable que los establecimientos minoristas proporcionen información suficiente, clara y precisa sobre las condiciones de almacenamiento, manipulación y cocinado de la carne. Las guías y recomendaciones de organismos internacionales indican que, tras el periodo de congelación, se debe descongelar antes de cocinar los alimentos congelados, ya que, de lo contrario, la cocción llevará más tiempo y puede no ser suficiente para garantizar que los alimentos hayan alcanzado la temperatura interna necesaria para eliminar los patógenos (FSA, 2020). Una vez descongelados los alimentos, deben guardarse refrigerados y consumirse dentro de las 24 horas posteriores a la descongelación. Si bien la descongelación en refrigeración lleva más tiempo que la descongelación en un horno de microondas o a temperatura ambiente, se garantiza que los alimentos descongelados permanezcan a temperaturas microbiológicamente seguras durante todo el proceso de descongelación y que el crecimiento de patógenos sea mínimo. Si no es posible, se puede descongelar en un microondas en una configuración de descongelación. Este método es más rápido y se puede realizar poco antes de cocinar los alimentos. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los alimentos se descongelan de manera desigual en el microondas y pueden alcanzar temperaturas superiores a los 8 °C, lo que favorece el crecimiento microbiano. Por lo tanto, una vez descongelados en microondas, los alimentos deben cocinarse inmediatamente después. Ciertos alimentos se pueden descongelar pasándolos por agua fría, lo cual es más rápido que descongelarlos en refrigeración y no permitirá que los alimentos se calienten demasiado, aunque no debe ser la práctica más habitual.

De acuerdo con las recomendaciones del USDA-FSIS (2005), la vida útil del producto descongelado bajo refrigeración se fija en 3-5 días, mientras que los productos descongelados en agua fría o descongelados por microondas deben cocinarse inmediatamente después de la descongelación y antes del consumo.

Conclusiones del Comité Científico

En el presente informe se ha procedido al estudio de los principales factores que afectan a la calidad y seguridad de la carne teniendo en cuenta los distintos estadíos de refrigeración previa o maduración, congelación, y descongelación, con objeto de establecer un periodo orientativo de vida útil para su comercialización en establecimientos de venta al por menor.

Las principales conclusiones que se desprenden del informe residen en la variabilidad existente entre las distintas especies animales, tratamientos aplicados y factores involucrados, con lo que se antoja complicado establecer una fecha de consumo preferente que sea válida para todos los tipos de carnes.

Siendo el objeto del informe la evaluación de la carne fresca no procesada sometida a congelación, a la hora de establecer la vida útil se ha demostrado que los periodos de refrigeración cortos, seguidos de una inmediata congelación posterior pueden ayudar a mantener o incluso mejorar el perfil organoléptico de la carne, aunque es importante que el operador del establecimiento tenga en cuenta el tipo de pieza cárnica, y el uso previsto de la misma.

A pesar de que los microorganismos patógenos pueden sobrevivir en condiciones de congelación en la carne, siempre que en el establecimiento se lleven a cabo unas buenas prácticas higiénicas basadas en los principios del Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico (APPCC), se puede concluir que la seguridad microbiológica no se ve comprometida, tal y como indican las recomendaciones proporcionadas por la USDA, por lo que la evaluación de la vida útil debería tener en cuenta principalmente parámetros de calidad. No obstante, dado que la congelación *per se* no consigue una inactivación total de los microorganismos es importante que en el establecimiento de comercio al por menor se sigan unas normas higiénicas basadas en la aplicación de buenas prácticas de higiene y APPCC de forma que se evite la contaminación de la carne durante el periodo de almacenamiento y manipulación de la misma.

Las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de la carne durante el periodo de congelación pueden sufrir importantes variaciones debidas a los fenómenos de oxidación lipídica y proteica, así como a la generación de compuestos volátiles que pueden afectar a su aptitud sensorial y culinaria. Por ello, es importante que el establecimiento indique una serie de recomendaciones hacia los consumidores acerca de la descongelación de la carne, así como los tratamientos de cocinado de la misma con objeto de preservar sus características organolépticas.

Por último, las fechas de consumo preferente proporcionadas en el informe tienen un carácter meramente orientativo, siendo responsabilidad del operador del establecimiento de comercio al por menor el fijar un periodo de vida útil para cada tipo de pieza cárnica en función de las condiciones de conservación y uso previsto por parte del consumidor.

Dichas fechas de consumo preferente se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Orientaciones sobre fechas de consumo preferente para la carne congelada			
Especie animal	**Congelación tras recepción**	**Maduración**	**Congelación tras maduración**
Vacuno	12 meses a -18 ºC	14 días a <2 ºC	9 meses a -18 ºC
Ovino	12 meses a -18 ºC	14 días a -1,5 ºC	9 meses a -18 ºC
Caprino	12 meses a -18 ºC	3-5 días a 4,44 ºC	N. D.*
Porcino	6 meses a -18 ºC	N. D.	N. D.
Ave	12 y 9 meses a -18 ºC para productos enteros y despiezados	9 días a < -1 ºC	N. D.
Conejo	N. D.	N. D.	N. D.

*N. D.: no es posible establecer recomendaciones generales.

Referencias

Abdallah, M.B., Marchello, J.A. y Ahmad, H.A. (1999). Effect of freezing and microbial growth on myoglobin derivatives of beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, pp: 4093-4099.

Ahmad, T., Kumar, Y. y Singh, J.N. (2017). Effect of frozen storage of goat meat on quality parameters stored in the form of chunk and mince in two packaging materials. *Indian Journal of Animal Research*, 52 (5), pp: 780-785.

Akamittath, J.G., Brekke, C.J. y Schanus, E.G. (1990). Lipid oxidation and colour stability in restructured meat systems during frozen storage. *Journal of Food Science*, 55, pp: 1513-1517.

Ambrosiadis, I., Theodorakakos, N., Georgakis, S. y Lekas, S. (1994). Influence of thawing methods on the quality of frozen meat and drip loss. *Fleischwirtschaft*, 74, pp: 284-286.

Añón, M.C. y Cavelo, A. (1980). Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. *Meat Science*, 4, pp: 1-14.

Benjakul, S. y Bauer, F. (2001). Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis Linne*) muscle as influenced by different freeze/thaw cycles. *Food Chemistry*, 72, pp: 207-217.

BFFF (2015). British Frozen Food Federation. Guide to the Management of Listeria in Food Processing. Disponible en: https://bfff.co.uk/wp-content/uploads/2015/11/Listeria-Guidance.pdf [acceso: 13-09-22].

BOE (2003). Real Decreto 1376/2003, de 7 de noviembre, por el que se establecen las condiciones sanitarias de producción, almacenamiento y comercialización de las carnes frescas y sus derivados en los establecimientos de comercio al por menor. BOE Nº 273 de 14 de noviembre de 2003, pp: 40094-40101.

Calvelo, R.J. (1981). Recent studies on meat freezing. En libro: *Developments in meat science-2*. Lawrie, R. editor. Londres. Elsevier Applied Science Publishers, pp: 125-158.

Chan, Y.C. y Wiedmann, M. (2009). Physiology and genetics of *Listeria monocytogenes* survival and growth at cold temperatures. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49, pp: 237-253.

Cho, S., Kang, S.M., Seong, P., Kang, G., Kim, Y., Kim, J., Chang, S. y Park, B. (2017). Effect of Aging and Freezing Conditions on Meat Quality and Storage Stability of 1++ Grade Hanwoo Steer Beef: Implications for Shelf Life. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37 (3), pp: 440-448.

Codex Alimentarius (2005). Code of Hygienic Practice for Meat. CAC/RCP 58-2005. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%-252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXC%2B58-2005%252FCXP_058e.pdf [acceso: 13-09-22].

Coombs, C.E.O., Holman, B.W.B., Collins, D., Friend, M.A. y Hopkins, D.L. (2017). Effects of chilled-then-frozen storage (up to 52 weeks) on lamb *M. longissimus lumborum* quality and safety parameters. *Meat Science*, 134, pp: 86-97.

Custódio, F.B., Vasconcelos-Neto, M.C., Theodoro, K.H., Chisté, R.C. y Gloria, M.B.A. (2018). Assessment of the quality of refrigerated and frozen pork by multivariate exploratory techniques. *Meat Science*, 139, pp: 7-14.

Domínguez, S. y Schaffner, D. (2009). Survival of *Salmonella* in Processed Chicken Products during Frozen Storage. *Journal of Food Protection*, 72 (10), pp: 2088-2092.

EFSA (2011). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. *EFSA Journal*, 9 (4): 2105, pp: 1-141.

EFSA (2014). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the public health risks related to the maintenance of the cold chain during storage and transport of meat. Part 1 (meat of domestic ungulates). *EFSA Journal*, 12 (3): 3601, pp: 1-81.

EFSA (2017a). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific opinion on hazard analysis approaches for certain small retail establishments in view of the application of their food safety management systems. *EFSA Journal*, 15 (3): 4697, pp: 1-52.

EFSA (2017b). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen. *EFSA Journal*, 15 (7): 4886, pp: 1-89.

EFSA (2018). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the hazard analysis approaches for certain small retail establishments and food donations: second scientific opinion. *EFSA Journal*, 16 (11): 5432, pp: 1-52.

FAO (1991). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Cold preservation of meat products. Manual on meat cold store operation and management. FAO animal production and health paper 92. Disponible en: https://www.fao.org/3/t0098e/T0098E02.htm [acceso: 13-09-22].

FEDACOVA (2012). Federación Empresarial de Agroalimentación de la Comunidad Valenciana. Guía de Prácticas Correctas de Higiene del Sector Cárnico. Disponible en: https://www.fedacova.org/wp-content/uploads/2017/03/GUIA-CARNE_julio16.pdf [acceso: 13-09-22].

Fernandes, R., Freire, M.T., Carrer, C. y Trindade, M.A. (2013). Evaluation of Physicochemical, Microbiological and Sensory Stability of Frozen Stored Vacuum-Packed Lamb Meat. *Journal of Integrative Agriculture*, 12 (11), pp: 1946-1952.

Foschino, R. (2002). Freezing injury of *Escherichia coli* during the production of ice cream. *Annals of microbiology*, 52, pp: 39-46.

FSA (2020). Food Standards Agency. Chilling. Disponible en: https://www.food.gov.uk/safety-hygiene/chilling [acceso: 13-09-22].

González-Sanguinetti, S., Añón, M.C. y Cavelo, A. (1985). Effect of thawing rate on the exudate production of frozen beef. *Journal of Food Science*, 50, pp: 697-700.

Greer, G.G. y Murray, A.C. (1991). Freezing effects on quality, bacteriology, and retail case life of pork. Journal of *Food Science*, 56, pp: 891-894.

Hammad, H.H.M., Meihu, M., Guofeng, J. y Lichao, H. (2017). Nitroso-hemoglobin preparation and meat product colorant development. *Journal of Food Processing and Technology*, 8 (2), pp: 1-8.

Hammad, H.H.M., Ma, M., Damaka, A.W.H.Y., Elkhedir, A. y Jin, G. (2019). Effect of freeze and re-freeze on chemical composition of beef and poultry meat at storage period 4.5 months. *Journal of Food Processing and Technology*, 10, pp: 1-6.

Hansen, E., Juncher, D., Henckel, P., Karlsson, A., Bertelsen, G. y Skibsted, L.H. (2004). Oxidative stability of chilled pork chops following long term frozen storage. *Meat Science*, 68, pp: 479-484.

HHS-FDA (2018). United States Department of Health and Human Services-Food and Drug Administration. Refrigerator and freezer storage chart. Disponible en: https://www.fda.gov/media/74435/download [acceso: 13-09-22].

Holman, B.W.B., Coombs, C.E.O., Morris, S., Kerr, M.J. y Hopkins, D.L. (2017). Effect of long term chilled (up to 5 weeks) then frozen (up to 12 months) storage at two different sub-zero holding temperatures on beef: 1. Meat quality and microbial loads. *Meat Science*, 133, pp: 133-142.

Humblot, M.J.P.O., Carter, L., Mytilianios, I. y Lambert, R.J.W. (2015). Assessing the survival of *Listeria monocytogenes* in as domestic freezer by analyzing subsequent growth at 30 ºC using a novel reference method. *Journal of Food Protection*, 78, pp: 349-354.

Johne, A., Filter, M., Gayda, J., Buschulte, A., Bandick, N., Nöckler, K. y Mayer-Scholl, A. (2021). Reprint of: Survival of *Trichinella spiralis* in cured meat products. *Veterinary Parasitology*, 297: 109544.

Kaewthong, P., Pomponio, L., Carrascal, J.R., Knochel, S., Wattanachant, S. y Karlsson, A.H. (2019). Changes in the Quality of Chicken Breast Meat due to Superchilling and Temperature Fluctuations during Storage. *Journal of Poultry Science*, 56 (4), pp: 308-317.

Kataoka, A., Wang, H., Elliott, P.H., Whiting, R.C. y Hayman, M.M. (2017). Growth of *Listeria monocytogenes* in Thawed Frozen Foods. *Journal of Food Protection*, 80, pp: 447-453.

Kim, Y.H.B., Luc, G. y Rosenvold, K. (2013). Pre rigor processing, ageing and freezing on tenderness and colour stability of lamb loins. *Meat Science*, 95, pp: 412-418.

Kluth, I., Teuteberg, V., Ploetz, M. y Krischek, C. (2021). Effects of freezing temperatures and storage times on the quality and safety of raw turkey meat and sausage products. *Poultry Science*, 100: 101305.

Kotula, A.W., Dubey, J.P., Sharar, A.K., Andrews, C.D., Shen, S.K. y Lindsay, D.S. (1991). Effect of Freezing on Infectivity of *Toxoplasma Gondii* Tissue Cysts in Pork. *Journal of Food Protection*, 54 (9), pp: 687-690.

Kupferschmidt, K. (2016). Europe's new hepatitis problem. *Science*, 353 (6302), pp: 862-863.

Lagerstedt, A., Enfalt, L., Johansson, L. y Lundstrom, K. (2008). Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef *M. longissimus dorsi*. *Meat Science*, 80, pp: 457-461.

Lan, Y., Shang, Y., Song, Y. y Dong, Q. (2016). Changes in the quality of superchilled rabbit meat stored at different temperatures. *Meat Science*, 117, pp: 173-181.

Lawrie, R.A. (1998). *Lawrie's meat science*. 6ª edición. Lancaster. PA: Technomic Publishing Inc.

Leygonie, C., Britz, T.J. y Hoffman, L.C. (2012a). Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*, 91, pp: 93-98.

Leygonie, C., Britz, T.J. y Hoffman, L.C. (2012b). Meat quality comparison between fresh and frozen/thawed ostrich *M. iliofibularis*. *Meat Science*, 91, pp: 364-368.

Liu, G., Xiong, Y.L. y Butterfield, D.A. (2000). Chemical, physical, and gel-forming properties of oxidized myofibrils and whey- and soy-protein isolates. *Journal of Food Science*, 65, pp: 811-818.

Löndahl, G. y Nilaaon, T. (1993). Storage of frozen foods. En libro: *Encyclopaedia of food science and nutrition*. Caballero, B., editor. 2ª edición. Oxford. Academic Press, pp: 2732-2735.

Lu, N., Ma, J. y Sun, D. (2022). Enhancing physical and chemical quality attributes of frozen meat and meat products: Mechanisms, techniques, and applications. *Trends in Food Science & Technology*, 124, pp: 63-85.

Lui, Z., Xiong, Y. y Chen, J. (2010). Protein oxidation enhances hydration but suppresses water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, pp: 10697-10704.

Marín-García, P., Planas, N. y Llobat, L. (2022). *Toxoplasma gondii* in Foods: Prevalence, Control, and Safety. *Foods*, 11: 2542, pp: 1-29.

Matches J.R. y Liston, J. (2006). Low Temperature Growth of *Salmonella*. *Journal of Food Science*, 33 (6), pp: 641-645.

Maziero, M.T. y Oliveira, T.C.R.M. (2010). Effect of refrigeration and frozen storage on the *Campylobacter jejuni* recovery from naturally contaminated broiler carcasses. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41 (2), pp: 501-505.

McMillin, K.W. (2008). Where is map going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat Science*, 80, pp: 43-65.

Miller, R.K. (2002). Factors affecting the quality of raw meat. En libro: *Meat Processing Improving Quality*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, pp: 27-63.

Morton, V.K., Kearney, A., Coleman, S., Viswanathan, M., Chau, K., Orr, A. y Hexemer, A. (2019). Outbreaks of *Salmonella* illness associated with frozen raw breaded chicken products in Canada, 2015-2019. *Epidemiology & Infection*, 147: 254, pp: 1-3.

Muela, E., Sañudo, C., Campo, M.M., Medel, I. y Beltrán, J.A. (2010). Effect of freezing method and frozen storage duration on instrumental quality of lamb throughout display. *Meat Science*, 84, pp: 662-669.

Muela, E., Monge, P., Sañudo, C., Campo, M.M. y Beltrán, J.A. (2015). Meat quality of lamb frozen stored up to 21 months: Instrumental analyses on thawed meat during display. *Meat Science*, 102, pp: 35-40.

Palumbo, S.A. y Williams, A.C. (1991). Resistance of *Listeria monocytogenes* to freezing in foods. *Food Microbiology*, 8, pp: 63-68.

Pham, Q.T. (2004). Thawing. En libro: *Encyclopaedia of meat science*, vol. 3. Jensen, editor. Oxford. Elsevier Academic Press, pp: 1150-1156.

Pradhan, A.K., Li, M., Li, Y., Kelso, L.C., Costello, T.A. y Johnson, M.G. (2012). A modified weibull model for growth and survival of *Listeria innocua* and *Salmonella Typhimurium* in chicken breasts during refrigerated and frozen storage. *Poultry Science*, 91, pp: 1482-1488.

PrimeSafe (2022). Shelf Life and Labelling Requirements for Meat Products. Disponible en: https://www.primesafe.vic.gov.au/standards-and-guidelines/primenotes/shelf-life-and-labelling-requirements-for-meat-products/ [acceso: 13-09-22].

Qi, J., Xu, Y., Zhang, W., Xie, X., Xiong, G. y Xu, X. (2021). Short-term frozen storage of raw chicken meat improves its flavor traits upon stewing. *LWT - Food Science and Technology*, 142: 111029.

Rahman, M.S. y Velez-Ruiz, J.F. (2007). Food Preservation by Freezing. En libro: *Handbook of Food Preservation*. 2ª edición. Boca Raton. CRC Press, pp: 636-657.

Rowe, L.J., Maddock, K.R., O'Lonergan, S.M. y Huff-Lonergan, E. (2004). Influence of early post-mortem protein oxidation on beef quality. *Journal of Animal Science*, 82, pp: 785-793.

Sayas-Barberá, E., Valero-Asencio, M.M., Navarro Rodríguez-Vera, C., Fernández-López, J., Haros, C.M., Pérez-Alvarez, J.A. y Viuda-Martos, M. (2021). Effect of different Black Quinoa fractions (seed, flour and wet-milling coproducts) upon quality of meat patties during freezing storage. *Foods*, 10 (12): 3080.

Schnewberger, R., Voilley, A. y Weisser, H. (1978). Activity of water in frozen systems. *International Journal of Refrigeration*, 1 (4), pp: 201-206.

Teuteberg, V., Kluth, I., Ploetz, M. y Krischek, C. (2021). Effects of duration and temperature of frozen storage on the quality and food safety characteristics of pork after thawing and after storage under modified atmosphere. *Meat Science*, 174: 108419.

Tozzo, K., Neto, A.F.G., Spercoski, K.M., Ronnau, M., Soares, V.M. y Bersot, L.S. (2018). Migration of *Salmonella* serotypes Heidelberg and Enteritidis in previously frozen chicken breast meat. *Food Microbiology*, 69, pp: 204-211.

UE (2004). Reglamento (CE) Nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DO L 139 de 30 de abril de 2004, pp: 55-205.

UE (2011). Reglamento (UE) Nº 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 25 de octubre de 2011, sobre la información alimentaria facilitada al consumidor y por el que se modifican los Reglamentos (CE) Nº 1924/2006 y (CE) Nº 1925/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, y por el que se derogan la Directiva 87/250/CEE de la Comisión, la Directiva 90/496/CEE del Consejo, la Directiva 1999/10/CE de la Comisión, la Directiva 2000/13/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, las Directivas 2002/67/CE, y 2008/5/CE de la Comisión, y el Reglamento (CE) Nº 608/2004 de la Comisión. DO L 304 de 22 de noviembre de 2011, pp: 18-63.

UE (2021). Reglamento Delegado (UE) 2021/1374 de la Comisión, de 12 de abril de 2021, que modifica el anexo III del Reglamento (CE) Nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre requisitos específicos de higiene de los alimentos de origen animal. DO L 297 de 20 de agosto de 2021, pp: 1-15.

USDA-FSIS (2005). United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service. Big thaw – safe defrosting methods for consumers. Disponible en: http://www.fsis.usda.gov/Fact_Sheets/Big_Thaw/index.asp [acceso: 13-09-22].

USDA-FSIS (2013). United States Department of Agriculture-Food Safety and Inspection Service. Goat From Farm to Table. Disponible en: https://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-food-handling-and-preparation/meat/goat-farm-table [acceso: 13-09-22].

Vieira, C., Díaz, M.T., Martínez, B. y García-Cachán, M.D. (2009). Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different states of ageing. *Meat Science*, 83, pp: 398-404.

Wang, Y., Liang, H., Xu, R., Lu, B., Song, X. y Liu, B. (2020). Effects of temperature fluctuations on the meat quality and muscle microstructure of frozen beef. *International Journal of Refrigeration*, 116 (2020), pp: 1-8.

Xiong, Y.L. (2000). Protein oxidation and implications for muscle food quality. En libro: *Antioxidants in muscle foods*. Decker, E. y Faustman, C., editores. Chichester. John Wiley & Sons, pp: 3-23, 85-111, 113-127.

Colaboración

Límites máximos de residuos y contaminantes en alimentos: bases de datos

Ana Sánchez Cuarental[1], Montaña Cámara Hurtado[2], Vicente Calderón Pascual[3] y Ricardo López Rodríguez[3]

[1]Escuela de Gobierno. Universidad Complutense de Madrid
[2]Facultad de Farmacia y Escuela de Gobierno. Universidad Complutense de Madrid
[3]Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Ministerio de Consumo

Resumen

Uno de los objetivos fundamentales de la legislación alimentaria es asegurar un nivel elevado de protección de la salud pública. En este sentido, los alimentos pueden contener distintas sustancias u organismos perjudiciales, encontrándose en ellos de forma natural o incorporándose a los alimentos a lo largo de la cadena alimentaria, debido al proceso productivo o como consecuencia de una contaminación medioambiental. En aquellos casos en los que la presencia de estos contaminantes o residuos supongan un riesgo para el consumidor deben tomarse medidas de gestión, entre las que se encuentra el establecimiento de normas que limiten la presencia de estos contaminantes en los alimentos para reducir la exposición de los consumidores.

El objetivo de este trabajo es identificar las principales bases de datos de Límites Máximos de Residuos (LMR) de plaguicidas, de residuos de medicamentos de uso veterinario y de contaminantes químicos, biológicos y radiológicos, tanto a nivel internacional, como en la Unión Europea y en España. El uso de estas bases de datos puede ser de gran utilidad tanto para las autoridades competentes que realicen los controles oficiales de los productos alimenticios, como para los operadores económicos que quieran importar o exportar productos, facilitándoles así la búsqueda de estos requisitos, pudiendo saber cuáles son los límites legales exigidos en cada uno de los países y para cada tipo de producto. Esta colaboración es una adaptación del trabajo de fin de máster del mismo título realizado en la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y presentado en el Máster Propio en Seguridad Alimentaria de la Escuela de Gobierno de la Universidad Complutense de Madrid.

Teniendo en cuenta la información que ofrecen distintas bases de datos, se considera que las más completas y útiles de cada categoría para un usuario español son la de la Comisión Europea para plaguicidas, la de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) para residuos de medicamentos de uso veterinario y la de la AESAN para contaminantes químicos, microbiológicos y radiológicos.

Palabras clave

AESAN, alimentos, bases datos, límites máximos, residuos, contaminantes.

Maximum residue and contaminant limits in food: databases

Abstract

One of the fundamental goals of food law is to ensure a high level of public health protection. In this sense, food may contain different harmful substances or organisms that are naturally present or are incorporated along the food chain, as a result of the production process or as a consequence of environmental contamination. Where the presence of these contaminants or residues poses a risk to the consumer, management measures should be taken, including the establishment of regulations limiting the presence of these contaminants in food to reduce consumer exposure.

The objective of this work is to identify the main databases of Maximum Residue Limits (MRL) of pesticides, residues of veterinary medicines and chemical, biological and radiological pollutants, internationally, as well as in the European Union and in Spain. The use of these databases can be very helpful for the competent authorities that conduct official controls of food products, as well as for the economic operators who want to import or export products, thus facilitating searches for these requirements, allowing them to know which are the legal limits required in each country and for each type of product. This is an adaptation of the final master's degree work of the same name carried out at the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) and presented in the Master's Degree in Food Safety from the School of Government of the Complutense University of Madrid.

Taking into account the information offered by different databases, it is considered that the most complete and useful databases of each category for a Spanish user are that of the European Commission for pesticides, that of the Spanish Agency for Medicines and Health Products (AEMPS) for residues of medicines for veterinary use and that of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition for chemical, microbiological and radiological contaminants.

Key words

AESAN, databases, food, maximum limits, residues, contaminants.

1. Introducción

Tal como establece el Reglamento (CE) Nº 178/2002 por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria (UE, 2002), uno de los objetivos fundamentales de la legislación alimentaria es asegurar un nivel elevado de protección de la salud pública.

En este sentido, los alimentos pueden contener distintas sustancias u organismos perjudiciales para la salud del consumidor que pueden estar presentes de forma natural o que se incorporan al alimento a lo largo de la cadena alimentaria debido al proceso productivo o como consecuencia de una contaminación medioambiental. Estos componentes, contaminantes o residuos pueden suponer un peligro para la salud del consumidor, por lo que debe realizarse una evaluación del riesgo de su ingesta a través de los alimentos.

En aquellos casos en los que exista un riesgo para el consumidor deben tomarse medidas de gestión. Estas medidas pueden ir desde el establecimiento de normas que limiten la presencia de estos contaminantes en los alimentos para reducir la exposición de los consumidores, hasta la aplicación de controles que permitan retirar del mercado aquellos productos con niveles de contaminantes que puedan suponer un riesgo para el consumidor.

Entre las medidas que permiten proteger la salud de los consumidores está el establecimiento de límites máximos de estos contaminantes en los alimentos. Así, por ejemplo, el Reglamento (CEE) Nº 315/93 (UE, 1993) prohíbe la comercialización de productos alimenticios que contengan contaminantes en proporciones inaceptables respecto de la salud pública y, en particular, desde el punto de vista toxicológico. En este sentido y a fin de proteger la salud pública este reglamento establece que se fijarán los límites máximos cuya tolerancia pudiese resultar necesaria por lo que respecta a determinados contaminantes.

El establecimiento de distintos límites máximos para una misma sustancia u organismo por parte de distintos países puede suponer una barrera comercial y, por ello, a nivel de la Unión Europea (UE) es preciso establecer un procedimiento para la adopción de normas comunitarias armonizadas (UE, 1993). También a nivel internacional existen iniciativas, como el *Codex Alimentarius* (Codex, 2022), que armonizan el establecimiento de límites máximos de contaminantes y residuos en los alimentos de manera que, aunque sus criterios no sean de obligado cumplimiento, haya referencias comunes.

En la UE la mayoría de los límites máximos se fijan para el conjunto de la Unión. En algunos casos también existe legislación nacional o puede ocurrir que, pese a existir una regulación común para la UE, se tengan en cuenta circunstancias regionales.

Los límites máximos son dinámicos ya que los constantes avances científico-técnicos permiten mejorar la calidad y seguridad de los alimentos, de modo que la legislación alimentaria debe actualizarse con periodicidad, adaptándose así a la nueva información resultante de evaluaciones científicas del riesgo.

Desde un punto de vista comercial, y teniendo en cuenta la consolidación de los mercados globales, es trascendental conocer y adaptar cada producto a las diferentes políticas, requisitos o normas sobre seguridad alimentaria del país en el que se pretende comercializar un producto. Por ello,

disponer de bases de datos que recopilen los límites de interés sanitario reglados vigentes, además de ayudar a garantizar la comercialización de alimentos seguros, contribuye al buen funcionamiento de los intercambios comerciales.

2. Objetivos

El objetivo de este trabajo es la identificación de las principales bases de datos de Límites Máximos de Residuos (LMR) de plaguicidas, de residuos de medicamentos veterinarios y de contaminantes químicos, microbiológicos y radiológicos, tanto a nivel internacional, como en la UE y en España, ya que el uso de estas bases de datos puede ser de gran ayuda tanto a las autoridades competentes que realicen los controles oficiales de los productos alimenticios, como para los operadores económicos que quieran importar o exportar productos, facilitándoles así la búsqueda de estos requisitos, pudiendo saber cuáles son los límites legales exigidos en cada uno de los países y para cada tipo de producto. Además, se estudiarán las características normativas de cada tipo de residuo y contaminante.

Esta colaboración es una adaptación del trabajo de fin de máster del mismo título realizado en la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y presentado en el Máster Propio en Seguridad Alimentaria de la Escuela de Gobierno de Universidad Complutense de Madrid.

3. Metodología

El alcance de este trabajo abarca los residuos de plaguicidas, los residuos de medicamentos de uso veterinario y los contaminantes químicos, microbiológicos y radiológicos en productos alimenticios. Se ha decidido no incluir los materiales en contacto con alimentos, ya que algunos límites no se refieren a alimentos sino al propio material, ni a los aditivos, al no ser contaminantes sino sustancias cuya presencia en los alimentos puede ser intencionada y cuyo uso está autorizado en los alimentos.

La metodología utilizada para la realización de este trabajo se ha centrado en la revisión bibliográfica de la legislación alimentaria y en la búsqueda y análisis de bases de datos relativas a los Límites Máximos de Residuos de plaguicidas, residuos de medicamentos de uso veterinario y contaminantes. Esta búsqueda se ha llevado a cabo en las páginas web de agencias y autoridades de seguridad alimentaria, tanto a nivel nacional, europeo como internacional, así como en las páginas web de empresas del sector.

4. Límites máximos de parámetros de interés sanitario en alimentos

4.1 Límites Máximos de Residuos de plaguicidas

Es importante destacar que los Límites Máximos de Residuos (LMR) de plaguicidas no son límites toxicológicos, sino límites toxicológicamente aceptables, basados en una buena práctica agrícola y que representan la cantidad máxima de un residuo que es posible encontrar en un alimento de origen vegetal como consecuencia del uso legal de un plaguicida. No son límites toxicológicos porque su superación no implica necesariamente la existencia de un riesgo para la salud. Son toxicológicamente aceptables porque su cumplimiento asegura que no producen efectos tóxicos en los individuos, ni agudos ni crónicos (AESAN, 2022a).

Se establecen en base a las conclusiones de un informe de evaluación del riesgo elaborado por un Estado miembro de la UE. Este informe incluye las cuatro etapas de una evaluación de riesgos: identificación del factor de peligro, caracterización del factor de peligro, estimación de la exposición y caracterización del riesgo. El informe, junto con la propuesta de LMR, pasan a manos de la EFSA, que emitirá un dictamen basado en aspectos de salud pública.

El Reglamento (CE) Nº 396/2005 (UE, 2005a) permite también fijar LMR temporales en determinadas circunstancias como son, entre otras; cuando la presencia de plaguicidas pueda deberse a la contaminación ambiental, cuando los productos correspondientes constituyan una fracción poco importante de la dieta de los consumidores o de los animales, para la miel o para las infusiones de hierbas. La validez de estos límites temporales se deberá revisar al menos una vez cada 10 años, y en caso necesario se modificará. Desde el instante en el que se comercialicen los productos alimenticios comprendidos en el anexo I del reglamento como alimentos o piensos, no podrán contener ningún residuo de plaguicida que supere los LMR fijados en el anexo II o III (UE, 2005a), o un 0,01 mg/kg en aquellos en los que no se haya fijado un límite.

Cabe mencionar también el Reglamento Delegado (UE) Nº 2016/127 (UE, 2016a) y el Reglamento Delegado (UE) Nº 2016/128 (UE, 2016b) relativos a los requisitos de alimentos para lactantes, de continuación y para niños de corta edad, así como para usos médicos especiales, respectivamente. En estos reglamentos se establecen, de igual forma, límites máximos para ciertas sustancias, más restrictivos (como, entre otros, frente a cadusafos, etoprofos o fipronil), al tratarse de poblaciones de riesgo, así como sustancias cuya presencia está prohibida en estos productos (como el fentín o el aldrín). Sin embargo, en estas sustancias prohibidas, a efectos de control se considerará que no se han utilizado productos fitosanitarios si los residuos no superan los 0,003 mg/kg, ya que la presencia en cantidades inferiores a este límite se puede deber a contaminaciones externas de los cultivos.

El anexo I del Reglamento (CE) Nº 396/2005 (UE, 2005a), fija los límites máximos sobre materias primas sin transformar, por lo que para conocer el LMR de los productos transformados es necesario aplicar factores de transformación (concentración, dilución…) sobre el LMR del producto inicial. Estos factores deberían estar recogidos en el anexo VI del Reglamento (CE) Nº 396/2005. Sin embargo, éste aún no se ha desarrollado, viendo retrasada su publicación durante años al tratarse de un trabajo tan complejo. Debido a esto, y mientras no se publique el anexo VI, los factores que se deben considerar en los productos transformados deben tener en cuenta la información del procesamiento al que ha sido sometido el producto crudo. Se puede recurrir a diversa bibliografía para orientarse a este respecto, como los dictámenes de la EFSA para cada sustancia activa o los documentos del *Codex Alimentarius* (AESAN, 2022a).

Debe mencionarse también la evaluación del riesgo acumulativa, que es aquella que tiene en cuenta los posibles efectos en la salud relativos a la presencia simultánea de diferentes residuos en un mismo alimento. A la hora de proponer la fijación de un LMR seguro para los consumidores se deben tener en cuenta los posibles efectos acumulativos y sinérgicos conocidos de las sustancias activas. Sin embargo, no se ha desarrollado completamente una metodología adecuada. Esta metodología se debe basar en la suposición de que los productos fitosanitarios que causan los mismos efectos tóxicos pueden producir toxicidad conjunta y acumulativa, incluso si tienen modos de acción distintos (AESAN, 2022a).

4.2 Límites Máximos de Residuos de medicamentos de uso veterinario

Al igual que en el caso de los LMR de plaguicidas, los LMR de medicamentos veterinarios no son límites toxicológicos, sino toxicológicamente aceptables. El Reglamento (CE) Nº 470/2009 establece los procedimientos comunitarios para la fijación de los límites de residuos de las sustancias farmacológicamente activas en los alimentos de origen animal (UE, 2009) pero dichos límites figuran en el Reglamento (UE) Nº 37/2010 (UE, 2010), que contiene un anexo con dos listas ordenadas por orden alfabético, una para sustancias autorizadas y otra para sustancias prohibidas. En este anexo se especifican los límites teniendo en cuenta la especie animal de la que se trate, así como el tejido concreto, ya que dentro de la misma especie el límite puede variar de un tejido a otro. También se indica cuál es el residuo marcador (residuo cuya concentración guarda una relación conocida con la concentración de los residuos totales de un tejido comestible) para cada sustancia farmacológicamente activa y su clasificación terapéutica, así como otras disposiciones a tener en cuenta, como si se permite el uso de esa sustancia en ciertas especies o no, o la vía por la que se deben administrar.

Por su parte, el Reglamento (UE) Nº 2019/1871 (UE, 2019a) fija valores de referencia (los valores más bajos que pueden ser detectados analíticamente) para los residuos de sustancias activas como el cloranfenicol, el verde malaquita o los nitrofuranos y sus metabolitos, los cuales no tienen establecidos límites máximos por ser sustancias cuyo uso está prohibido o no autorizado en la UE. Se considerará que los alimentos de origen animal, tanto procedentes de terceros países como de la UE, que contengan residuos de estas sustancias activas en una concentración igual o superior al valor de referencia no cumplen la legislación de la UE, no pudiendo entrar, por tanto, en la cadena alimentaria, mientras que sí se permitirá su comercialización si los residuos son inferiores a los valores de referencia. En cualquier caso, ante la determinación de sustancias prohibidas o no autorizadas, aunque sea por debajo de los valores de referencia, se deberá llevar a cabo una investigación para determinar si los animales han sido sometidos a tratamientos ilegales.

4.3 Límites máximos de contaminantes químicos

Según las normas establecidas por el *Codex Alimentarius* (Codex, 1995) solamente se deberán establecer niveles máximos de contaminantes para aquellos alimentos que tengan cierta importancia para el cómputo de la exposición total del consumidor, y para aquellos contaminantes que presenten un riesgo significativo para la salud pública, de forma que el consumidor esté protegido. Para disminuir al máximo la concentración de los contaminantes en los alimentos, se deberán seguir unas buenas prácticas de fabricación y unas buenas prácticas agrícolas. Se deberá asignar a los límites máximos el valor más bajo que razonablemente pueda alcanzarse, pero que proteja al consumidor, por lo que tampoco serán límites toxicológicos, sino toxicológicamente aceptables. Al igual que en el caso de la fijación de los LMR de plaguicidas, la fijación de límites máximos de contaminantes se deberá basar en una evaluación del riesgo adecuada, para la cual se deberá tener información toxicológica de la sustancia (identificación, metabolismo, toxicidad aguda/crónica…), datos de análisis (presencia en alimentos), datos de ingesta (datos de ingesta por grupos de población…) y consideraciones tecnológicas (procesos de contaminación, prácticas de producción…).

El Reglamento (CE) Nº 1881/2006 (UE, 2006) recoge límites máximos de determinados contaminantes en alimentos para nitratos, micotoxinas, metales, 3-monocloropropanodiol (3-MCPD), ésteres de ácidos grasos de 3-MCPD y ésteres glicidílicos de ácidos grasos, dioxinas y PCB, hidrocarburos aromáticos policíclicos, melamina y sus análogos estructurales, toxinas vegetales inherentes y perclorato. Debemos también mencionar al Reglamento (UE) Nº 2020/2040 (UE, 2020a) y al Reglamento (UE) Nº 2021/2142 (UE, 2021a) los cuales se han empezado a aplicar a partir del 1 de Julio de 2022. Estos reglamentos recogen límites máximos en ciertos alimentos frente a alcaloides pirrolizidínicos y alcaloides opiáceos.

El Reglamento (CE) Nº 1881/2006 (UE, 2006) establece que no se podrán comercializar los alimentos que contengan contaminantes en cantidades que superen los límites establecidos. Sin embargo, presenta también una serie de exenciones para ciertos contaminantes, en determinados productos y para algunos países, siempre y cuando el consumo se produzca en el Estado miembro de la UE en el que se produjo. Este es el caso del arenque, salvelino, lamprea y trucha procedentes del Báltico, que sobrepasen los límites frente a dioxinas, PCBs o similares, para Finlandia y Suecia y, además de en estos países, para el caso de Letonia, el salmón. Estos países también podrán presentar niveles superiores de hidrocarburos aromáticos policíclicos en los productos de la pesca que se hayan ahumado del modo tradicional. En el caso de España, además de en otros países como Irlanda o Portugal, la carne o productos cárnicos ahumados del modo tradicional también podrán presentar un contenido en hidrocarburos aromáticos policíclicos superior a los marcados en este reglamento.

En el anexo del reglamento se indican los límites máximos permitidos de cada contaminante para cada alimento concreto, pudiendo, además, según el producto, existir distintos límites según factores como el tipo de cultivo, la fecha de cultivo, si van a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano, la forma de comercialización o la especie animal, entre otros (UE, 2006).

A nivel nacional, por ejemplo, destaca el Real Decreto 3/2023 (BOE, 2023) por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. Este real decreto recoge de igual forma los límites máximos de varios parámetros químicos para el agua de consumo. También cabe mencionar al Real Decreto 475/1988 (BOE, 1988) por el que se establecen límites máximos de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en los alimentos para consumo humano. Este real decreto únicamente es de aplicación en aquellos alimentos que no estén incluidos en el Reglamento (CE) Nº 1881/2006, como es el caso de la chufa, producto que principalmente se consume en España (UE, 2006).

4.4 Límites máximos de contaminantes biológicos

Los riesgos microbiológicos de los alimentos constituyen una de las principales fuentes de enfermedades de origen alimentario. Por ello, los alimentos no deben contener microorganismos ni sus toxinas o metabolitos en cantidades que supongan un riesgo inaceptable para la salud humana.

Tal como indica el Reglamento (CE) Nº 2073/2005 (UE, 2005b), la seguridad de los productos alimenticios se garantiza principalmente mediante un enfoque preventivo, como la adopción de buenas prácticas de higiene y la aplicación de procedimientos basados en los principios de Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico (APPCC).

Los criterios microbiológicos pueden utilizarse en la validación y verificación de los procedimientos APPCC y otras medidas de control de la higiene. En consecuencia, es conveniente fijar criterios microbiológicos que definan la aceptabilidad de los procesos, así como criterios microbiológicos para la seguridad de los alimentos, que establezcan un límite por encima del cual un producto alimenticio deba considerarse contaminado de forma inaceptable con los microorganismos para los que se han fijado los criterios.

La mayoría de los límites microbiológicos aplicables en España son los fijados para el conjunto de la UE, favoreciendo así los intercambios comerciales, al disponer de requisitos microbiológicos armonizados para los productos alimenticios en lugar de los criterios nacionales.

Muchos de los criterios microbiológicos fijados a nivel nacional fueron derogados por el Real Decreto 135/2010 (BOE, 2010a) que afectó a 25 reales decretos y órdenes que fijaban criterios microbiológicos a través de Reglamentaciones Técnico-Sanitarias y normas de calidad o higiene publicadas entre los años 1976 y 2000.

Actualmente, aún existen límites máximos a nivel nacional regulados por el Real Decreto 3/2023 para aguas de consumo humano (BOE, 2023), por el Real Decreto 1798/2010 para aguas minerales naturales envasadas y aguas de manantial envasadas (BOE, 2010b) y por el Real Decreto 1799/2010 para aguas preparadas envasadas (BOE, 2010c). Estos reales decretos fijan límites para parámetros químicos, microbiológicos y radioactivos. Se debe también mencionar a nivel nacional al reciente Real Decreto 1086/2020 (BOE, 2020), el cual permite la comercialización de leche cruda y establece criterios microbiológicos frente a *Campylobacter* spp., *E. coli* STEC O157, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*, así como límites relativos al número de gérmenes y de células somáticas.

A nivel de la UE, el Reglamento (CE) Nº 853/2004 (UE, 2004) fija límites en leche cruda de vaca, leche cruda de vaca utilizada para preparar productos lácteos antes de ser sometida a tratamiento térmico y en leche cruda de especies distintas a la vaca, frente al número de gérmenes y número de células somáticas. Establece de igual modo límites máximos frente a toxinas en moluscos bivalvos (toxina paralizante, toxina amnésica, ácido ocadoico y dinofisistoxinas, yesotoxinas y azaspirácidos), y en ovoproductos frente a residuos de cáscara, ácido láctico y 3-OH-butírico.

Sin embargo, es el Reglamento (CE) Nº 2073/2005 el que fija criterios microbiológicos en una mayor variedad de productos (UE, 2005b). Por criterio microbiológico se entiende aquel criterio que define la aceptabilidad de un producto, un lote de productos alimenticios o un proceso, basándose en la ausencia, la presencia o un número de microorganismos, y/o en la cantidad de sus toxinas/metabolitos, por unidad de masa, volumen, superficie o lote.

Los criterios fijados por el Reglamento (CE) Nº 2073/2005 son de dos tipos: criterios de seguridad alimentaria y criterios de higiene del proceso. El criterio de seguridad alimentaria es el criterio que define la aceptabilidad de un producto o un lote de productos alimenticios y es aplicable a los productos comercializados. Por su parte, por criterio de higiene del proceso se entiende el criterio que indica el funcionamiento aceptable del proceso de producción; este criterio, que no es aplicable a los productos comercializados, establece un valor de contaminación indicativo por encima del cual se requieren medidas correctoras para mantener la higiene del proceso conforme a la legislación alimentaria (UE, 2005b).

Actualmente, el Reglamento (CE) Nº 2073/2005 establece 31 criterios de seguridad alimentaria para 9 parámetros microbiológicos y 29 matrices distintas (7 Grupos), y 24 criterios de higiene de los procesos para 8 parámetros microbiológicos y 24 matrices distintas (5 Grupos) (Tabla 1).

Tabla 1. Criterios microbiológicos establecidos por el Reglamento (CE) Nº 2073/2005

Criterios de seguridad alimentaria	**Criterios de higiene del proceso**
Microorganismos	**Microorganismos**
Cronobacter spp. *E. coli* *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) 0157, 026, 0111, 0103, 0145, 0104:H4 Enterotoxinas estafilocócicas Histamina *Listeria monocytogenes* *Salmonella* *Salmonella* Typhimurium *Salmonella* Enteriditis	*Bacillus cereus* (presunto) *Campylobacter* spp. *E. coli* Enterobacteriáceas Estafilococos coagulasa positivo Recuento de colonias aerobias *Salmonella* *Salmonella* spp.
Grupos de alimentos	**Grupos de alimentos**
Alimentos listos para el consumo Preparados deshidratados para lactantes, de continuación y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de 6 meses Carne y productos derivados Productos de la pesca Hortalizas, frutas y productos derivados Leche y productos lácteos derivados Ovoproductos	Carne y productos derivados Leche y productos lácteos Ovoproductos Productos de la pesca Hortalizas, frutas y productos derivados

Fuente: (UE, 2005b).

Para cada criterio microbiológico de seguridad alimentaria, el Reglamento (CE) Nº 2073/2005 fija, además de la categoría de alimentos para la que es aplicable, los microorganismos, sus toxinas, metabolitos, el plan de toma de muestras, los límites, el método analítico de referencia y la fase en la que se aplica el criterio. En el caso de los criterios de higiene de los procesos, se añade la acción en caso de resultados insatisfactorios (UE, 2005b).

No es habitual que los límites máximos se vinculen a métodos analíticos concretos ya que el avance de las técnicas analíticas hace más práctico que se fijen las condiciones que deben cumplir los métodos de análisis, evitando así que la legislación quede obsoleta al cabo de un cierto tiempo. Sin embargo, en el caso de los parámetros microbiológicos la influencia del método de análisis es determinante para detectar o cuantificar un microorganismo y, por ello, a cada criterio microbiológico fijado en el Reglamento (CE) Nº 2073/2005 le acompaña un método estandarizado conforme a una norma ISO (UE, 2005b).

Debemos también mencionar el Reglamento (UE) Nº 2019/627 (UE, 2019b), que, si bien establece los valores límites de nitrógeno básico volátil total en determinadas categorías de productos de la pesca, siendo éste un criterio de calidad, puede tener repercusión sobre la seguridad e inocuidad

del producto. Esta determinación se llevará a cabo en los casos en los que el examen organoléptico suscite dudas sobre la frescura de los productos de la pesca.

En cuanto a la contaminación por parásitos, la legislación no establece un límite numérico concreto. Por ejemplo, en el caso de la triquina es de aplicación el Reglamento de Ejecución (UE) Nº 2015/1375 (UE, 2015), el cual indica que se tomarán muestras para la detección de triquina, la cual podrá ser positiva o negativa. Por su parte, el Reglamento (CE) Nº 853/2004 (UE, 2004) indica, en lo relacionado con los productos de la pesca, que los operadores económicos deberán garantizar que sean sometidos a un examen visual con el fin de detectar los parásitos visibles antes de ser puestos en el mercado, no pudiéndose destinar al consumo humano aquellos que están claramente contaminados.

4.5 Límites máximos de contaminantes radiológicos

Algunos accidentes nucleares como los ocurridos en Chernóbil (1986) y en Fukushima (2011) liberaron a la atmósfera material radiactivo que contaminó alimentos y piensos en varios países. Ello ha llevado a adoptar medidas para garantizar la seguridad alimentaria de aquellos productos comercializados en la UE.

Así, en 2016 entró en vigor el Reglamento (Euratom) 2016/52 (UE, 2016c), que regula un sistema por el que se establecen tolerancias máximas de contaminación radiactiva de los alimentos y los piensos tras un accidente nuclear o cualquier otro caso de emergencia radiológica, permitiendo fijar límites máximos para alimentos y piensos que vayan a comercializarse a fin de proteger la salud de los consumidores. Esto incluye tanto aquellos productos producidos en el UE como aquellos importados de terceros países. O, dicho de otro modo, cualquier alimento o pienso que no cumpla con las tolerancias máximas establecidas por la Comisión Europea no podrá comercializarse dentro de la UE.

Los Reglamentos de Ejecución (UE) Nº 2020/1158 (UE, 2020b) y 2021/1533 (UE, 2021b) imponen condiciones especiales de importación de alimentos y piensos procedentes de los territorios afectados por los accidentes nucleares de Chernóbil y Fukushima, respectivamente. Mientras que en los alimentos que aún se pueden ver afectados por el accidente de Chernóbil se debe controlar únicamente la contaminación radioactiva en términos de cesio-137, en los procedentes de Japón se debe verificar la suma de cesio-134 y cesio-137. Esto es debido al periodo de semidesintegración física del cesio-134, de aproximadamente 2 años, habiendo pasado, por tanto, un periodo de tiempo suficientemente seguro desde el accidente de Chernóbil para garantizar su semidesintegración.

Así, en caso de emergencia o accidente radiológico y tras realizar una evaluación del riesgo, la Comisión Europea fijará tolerancias máximas de contaminación radioactiva para diferentes categorías de alimentos. En este sentido, se debe distinguir entre alimentos primarios y secundarios, así como aquellos destinados a lactantes, productos lácteos o bien alimentos líquidos.

En casos debidamente motivados, cualquier Estado miembro de la UE, previa autorización, podrá fijar excepciones temporales a aquellas tolerancias máximas establecidas respecto a alimentos y piensos consumidos en su territorio (UE, 2016c).

A nivel nacional debemos también mencionar al Real Decreto 3/2023 (BOE, 2023) por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. En él se recogen los límites máximos frente a parámetros radiológicos (radón, tritio, actividad alfa total, actividad beta resto y dosis indicativa (Σ radionucleidos)).

5. Normas del *Codex Alimentarius*

El *Codex Alimentarius* es una compilación de normas, códigos de comportamiento, directrices y recomendaciones de la Comisión del *Codex Alimentarius*. La Comisión del *Codex Alimentarius* es una organización intergubernamental de carácter científico que contribuye a la armonización de la legislación alimentaria, con el objetivo de mejorar la seguridad en la cadena alimentaria y la comercialización de alimentos, teniendo en cuenta los intereses de los consumidores (FAO, 1999).

Esta Comisión del *Codex Alimentarius* no es un órgano de carácter legislativo, solo proporciona recomendaciones, por lo que el *Codex* no es vinculante para los países que son miembros. A modo de ejemplo, la UE es miembro del *Codex*, sin embargo, su principal órgano legislativo es la Comisión Europea, y, si bien a la hora de crear una nueva norma acostumbra a seguir las recomendaciones del *Codex,* la normativa europea prevalece sobre el *Codex*. De esta manera, puede ser que la normativa europea sea más estricta, difiriendo así del *Codex*.

Dentro de las normas que ha publicado el *Codex* podemos destacar por su relevancia en este trabajo la norma CX/MRL 2-2018 (Codex, 2018) relativa a los LMR y recomendaciones sobre la gestión de riesgos para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos, o la norma general CXS 193-1995 (Codex, 1995), para contaminantes y toxinas presentes en los alimentos y piensos.

6. Bases de datos de límites máximos en alimentos

6.1 Bases de datos de residuos de plaguicidas

Se identificaron 14 bases de datos de LMR de plaguicidas (LMR) (Tabla 2).

Tabla 2. Bases de datos de Límites Máximos de Residuos de plaguicidas

Bases de datos	Organismo	Datos de interés	Referencia
Pesticides Database Search	*Codex alimentarius*	Idioma: inglés Búsqueda por: listado alfabético (299 aprox.), buscador (plaguicida, clase funcional (15), producto (no funciona), código del producto	(Codex database A, 2022)
EU Pesticides Database	Comisión Europea	Idioma: inglés Búsqueda por: sustancia activa, antídoto de herbicidas y sustancias sinérgicas (1471 en total. Tipo de sustancia, estatus, legislación, país y por buscador), producto alimentario (311 en total. Grupo de alimento, subgrupo, producto concreto, otros y por buscador) y por residuo de plaguicida (653 en total. Alimento, legislación, nota a pie de página, anexos y por buscador) Otros: también se pueden buscar los productos que cuentan con una autorización de emergencia (3482). Los parámetros de búsqueda se pueden combinar	(Unión Europea, 2022)
Maximum Residue Level Search	*Health and Safety Executive* (HSE) Empresa privada Reino Unido	Idioma: inglés Búsqueda por: residuo/sustancia activa (99 aprox.), listado buscador y por nombre/código del producto (314 aprox.) Otros: los parámetros de búsqueda se pueden combinar. Se pueden seleccionar varios plaguicidas a la vez (hasta 5). HSE empresa de prevención de riesgos laborales	(HSE, 2022)
Homologa	Empresa privada Francia	Requiere pago	(Homologa, 2022)
Maximum Residue Limits Search	*Government of Canada*	Idioma: inglés y francés Búsqueda por: plaguicida (327 aprox.), alimento (846 aprox.), cultivo, subgrupo de cultivo y producto concreto Otros: se pueden seleccionar varios plaguicidas o alimentos a la vez	(Canadá, 2022)
BC Global	*Bryant Christie Inc.* (BCI) Estados Unidos	Idioma: inglés Búsqueda por: países (140), categorías de alimentos (875), plaguicidas (1000) Otros: indica detalles de regulación, posibilidad de comparar límites, notificaciones por correo si hay cambios, posibilidad de enviar dudas, cuenta básica gratuita, cuenta de pago ($3095)	(BCI, 2022)
Northwest Horticultural Council (NHC)	Empresa privada Estados Unidos	Idioma: inglés Búsqueda por: listado de países (59), listado de plaguicidas (nombre comercial y principio activo) Otros: solo indica los límites de peras, manzanas y cerezas. Muy incompleta	(NHC, 2022)

Tabla 2. Bases de datos de Límites Máximos de Residuos de plaguicidas			
Bases de datos	**Organismo**	**Datos de interés**	**Referencia**
Consulta Norma Nacional	Servicio Fitosanitario del Estado Costa Rica	Idioma: español Búsqueda por: plaguicida, clase funcional, alimento, LMR Otros: los parámetros de búsqueda se pueden combinar	(Costa Rica, 2022)
Maximum Residue Limits (MRLs). List of Agricultural Chemicals in Food	*The Japan Food Chemical Research Foundation*	Idioma: japonés e inglés Búsqueda por: parámetro de interés por orden alfabético: (831 aprox.), plaguicidas, medicamentos veterinarios y alimento (cultivo, producto animal y tejido/producto de la pesca, comidas procesadas, aguas minerales y orden alfabético) Otros: misma base de datos que la de plaguicidas	(Japón, 2022)
MRLs in pesticides	*Ministry of Food and Drug Safety* Corea del Sur	Idioma: coreano e inglés Búsqueda por: plaguicida (760 aprox.), alimento (640 aprox.) Otros: una vez hecha la búsqueda por uno de los dos parámetros aparece un listado de todos los otros parámetros que puede contener/estar, habiendo una barra de búsqueda para delimitarlo	(Corea del Sur, 2022a)
Hong Kong Pesticide MRL Database	*Centre for Food Safety* Hong Kong	Idioma: inglés Búsqueda por: plaguicida (360 aprox.), alimento (122 aprox.) Otros: los parámetros de búsqueda se pueden combinar	(Hong Kong, 2022)
Pesticide Residue in Food	*Department of Agriculture of the Ministry of Agriculture and Food* Malasia	Idioma: inglés Búsqueda por: listado alfabético de plaguicidas (124 aprox.), clase funcional, alimento (75) Otros: al lado de cada entrada indica el número de elementos que contiene	(Malasia, 2022)
MPI pesticide maximum residue limit database	*Ministry for Primary Industries* (MPI) Nueva Zelanda	Idioma: inglés Búsqueda por: país (23), plaguicida (313 aprox.), alimento (56) Otros: se deben seleccionar como mínimo dos parámetros para poder hacer la búsqueda. Es la única base de datos gratuita que recoge los límites de varios países	(Nueva Zelanda, 2022)
Agri-Intel	Empresa privada Sudáfrica	Requiere pago	(Agri-Intel, 2022)

El ***Codex Alimentarius*** (Codex database A, 2022) ha desarrollado una base de datos de plaguicidas que permite acceder a su normativa numérica en relación a los LMR. Esta base de datos permite acceder a la información mediante la búsqueda del residuo de plaguicida, de su clase funcional o alimento. Sin embargo, los criterios de búsqueda no son combinables, es decir, el usuario deberá elegir uno. La información dada incluye la cantidad máxima permitida de la sustancia, el año de

adopción y notas con información complementaria. La base de datos indica, mediante símbolos, si la materia prima está en o cerca del límite de determinación analítica, si el LMR permite un tratamiento posterior a la cosecha del producto, y si el LMR o Límite Máximo de Residuos Extraños (LMRE) es temporal, independiente de la Ingesta Diaria Admisible (IDA), hasta que se haya proporcionado y evaluado la información requerida. Además, dispone de un glosario de términos para una mayor comprensión de los datos, y están disponibles en varios idiomas: inglés, chino o español, entre otros.

Una de las bases de datos de plaguicidas más completa, de entre las 14 bases de datos identificadas, tanto por el número de sustancias recogidas, como por la información que contiene, es la de la **Unión Europea** (Unión Europea, 2022), que contiene información sobre los límites máximos de 1471 sustancias activas, 311 alimentos y 653 residuos de plaguicidas. La base de datos, la cual se encuentra en inglés, permite realizar la búsqueda por cualquiera de estas 3 categorías:

- Búsqueda por sustancia activa: se puede hacer escribiendo el nombre de la sustancia en el buscador, o filtrando por una serie de parámetros, como son el tipo de sustancia, el estatus (si la sustancia activa se encuentra aprobada, no aprobada, no implementada aún a nivel de la UE, o pendiente), la legislación que lo regula o el país en el que se encuentran autorizadas. Se puede seleccionar un único parámetro o se pueden combinar varios de ellos. Una vez hecha la búsqueda mediante los filtros, podemos buscar la sustancia de interés de la lista que nos indica, o escribir el nombre en el buscador. En la lista nos indica el nombre de la sustancia activa, si está o no aprobada, y el periodo de duración de la autorización. Una vez que seleccionamos una sustancia activa la ficha de la misma nos informa sobre la legislación que le es de aplicación, la fecha de aprobación y de expiración de la aprobación, el Estado miembro que solicitó su aprobación, un archivo en formato PDF con el informe de la sustancia, una lista con todos los países de la UE en los que está autorizado, un *link* que nos redirige a otra página donde vienen indicados los LMR en cada producto alimenticio que tiene autorizado su uso y la información toxicológica de interés. La página de búsqueda por sustancia activa también permite descargar un archivo en formato Excel con toda la información de las 1471 sustancias.
- Búsqueda por alimentos: en este caso, la búsqueda se puede hacer en el buscador, escribiendo, bien el nombre del producto o bien el código del mismo. La lista de productos alimenticios se encuentra organizada en forma de árbol, distinguiendo 4 categorías: grupo (como, por ejemplo, bayas y pequeñas frutas), subgrupo (uvas), producto principal (uvas de mesa) y otros. Al seleccionar un producto concreto, su ficha nos indica el resto de productos en los cuales se aplican los mismos LMR. A continuación, hay una lista con todos los residuos de plaguicidas autorizados en ese alimento y sus LMR. Si seleccionamos uno nos indica la legislación que es aplicable y en qué anexo del Reglamento (CE) Nº 396/2005 está recogido. También se puede descargar toda esta información en formato Excel.
- Búsqueda por residuo de plaguicida: al igual que en los dos casos anteriores, el nombre del plaguicida se puede escribir directamente en el buscador, o se puede acotar la búsqueda utilizando una serie de filtros, los cuales se pueden combinar. Los filtros de búsqueda incluyen el tipo de alimento, la legislación que le aplica, las notas de interés, y los anexos en los que se

encuentra dentro del Reglamento (CE) Nº 396/2005 (UE, 2005a). Como en los casos anteriores, toda esta información se puede descargar en formato Excel.

Esta base de datos permite también realizar búsquedas de autorizaciones de emergencia de determinadas sustancias. Esta búsqueda se puede realizar por palabra clave, por país donde se ha autorizado el uso, por sustancia activa, cultivo en el que se ha autorizado, y periodo de validez de la autorización. La ficha de autorización de cada sustancia se puede descargar en formatos PDF o en Excel.

A nivel europeo cabe también destacar la base de datos del ***Health and Safety Executive*** (HSE) (Reino Unido, 2022) que recoge los límites que son de aplicación en Reino Unido, coincidiendo actualmente con los que son de aplicación en la UE.

En América, son varios los países que han desarrollado bases de datos sobre límites máximos de contaminantes y otros parámetros de interés sanitario, como Canadá (Canadá, 2022), Estados Unidos (BCI, 2022) o Costa Rica (Costa Rica, 2022), encontrándose esta última en español.

El **Ministerio de Sanidad de Canadá** tiene una base de datos de los LMR establecidos por la Ley Canadiense sobre Productos para el Control de Plagas (*Pest Control Products Act*). En este caso, el usuario deberá seleccionar el producto químico y el producto alimentario para conocer el LMR y cuando se adoptó (Canadá, 2022). La búsqueda se puede realizar tanto en inglés como en francés.

En **Estados Unidos**, el servicio exterior del Departamento de Agricultura (USDA, *United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service*) utiliza una base de datos mantenida por un servicio externo al Departamento (BCI, 2022). Este servicio incluye 4 tipos de bases de datos de límites máximos, de plaguicidas, medicamentos de uso veterinario, contaminantes y aditivos, tanto en Estados Unidos, como en la UE, así como en más de 140 países y los establecidos en el *Codex*. Para poder acceder a las bases de datos es necesario tener una cuenta, que puede ser gratuita o *premium*. La suscripción gratuita solo permite acceder a las bases de datos de plaguicidas y de medicamentos de uso veterinario, siendo visibles únicamente los LMR aplicables dentro de Estados Unidos. La cuenta *Premium* proporciona información más exhaustiva sobre los LMR permitidos tanto en Estados Unidos como en otros países. Al igual que esta, otras bases de datos como la de ***Homologa*** (francesa) o ***Agri-Intel*** (sudafricana), requieren realizar un pago para su utilización. También se estudió la base de datos del ***Northwest Horticultural Council*** (NHC), que recoge únicamente límites relativos a peras, manzanas y cerezas, resultando, por lo tanto, muy limitada.

El **Departamento de Seguridad Alimentaria del Ministerio de Industrias Primarias de Nueva Zelanda** (MPI) presenta mediante una base de datos los LMR permitidos para plaguicidas utilizados en frutas y hortalizas tanto a nivel nacional como internacional, incluyendo más de 20 países, la UE y el *Codex* (Nueva Zelanda, 2022). Esta es la única base de datos gratuita que introduce la posibilidad de buscar los límites máximos de sustancias por países, lo que es una clara ventaja a la hora de realizar importaciones y exportaciones. Sin embargo, la base de datos no está tan completa como otras, ya que no recoge todos los plaguicidas ni todos los límites que sí tienen los países recogidos en sus propias bases de datos o legislaciones.

En Asia podemos destacar varios países que han desarrollado bases de datos que incluyen los LMR de plaguicidas. La **Fundación Japonesa de Investigación Química de Alimentos** (JFCRF) (Japón,

2022) registra LMR de químicos agrícolas que pueden persistir en los alimentos. Esto incluye residuos de plaguicidas y de medicamentos veterinarios en una única base de datos. La información se puede obtener a través de dos tipos de buscadores, uno en función del tipo de residuo, y el otro según la categoría alimentaria, pudiendo hacer la búsqueda tanto en inglés como en japonés. Por su parte, la **Agencia de Seguridad Alimentaria de Corea del Sur** (Corea del Sur, 2022a) provee dos bases de datos por separado, por un lado, la base de datos de plaguicidas y por otro la de medicamentos de uso veterinario (Corea del Sur, 2022b), presentando las mismas opciones de búsqueda, y pudiendo realizarla en coreano o en inglés. Asimismo, el **Centro de Seguridad Alimentaria de Hong Kong** (Hong Kong, 2022) nos ofrece una base de datos en la que se ordenan los LMR concernientes a plaguicidas contemplados en su normativa. Es posible buscar por nombre del plaguicida y/o por el tipo de alimento. El **Departamento de Agricultura del Ministerio de Agricultura y Alimentación de Malasia** (Malasia, 2022) también ha desarrollado una base de datos, mediante la que se puede hacer la búsqueda por residuos de plaguicida, clase funcional o alimento implicado, encontrándose toda la base de datos en inglés.

6.2 Bases de datos de límites de residuos de medicamentos de uso veterinario

De entre las 6 bases de datos relativas a límites de residuos de medicamentos de uso veterinario identificadas (Tabla 3), la que destaca por contener más parámetros de búsqueda es la **base de datos de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios** (AEMPS, 2022) estando, por tanto, en español. La estructura de esta base de datos es idéntica al anexo del Reglamento (UE) Nº 37/2010 (UE, 2010), una tabla con 7 columnas que incluyen; sustancia farmacológicamente activa, residuo marcador, especie animal, LMR, tejido diana, otras disposiciones y clasificación terapéutica. En el buscador de la base de datos se puede introducir cualquier palabra clave (cualquiera perteneciente a uno de los parámetros con los que cuenta la tabla), y aquellos cuadros que la contengan se resaltarán en amarillo, permitiendo identificarlos fácilmente. Esta base de datos, por el contrario, no elimina aquellos que no contengan la palabra seleccionada, ni lleva al punto exacto de los cuadros resaltados, por lo que la búsqueda es más complicada que en otras bases de datos, como la de la ***Japan Food Chemical Research Fondation*** (JFCRF) (Japón, 2022), de Japón o la del **Ministerio de Seguridad de Alimentos y Medicamentos de Corea del Sur** (Corea del Sur, 2022b), cuyo sistema de búsqueda es más intuitivo y sencillo de usar, no presentando ningún problema con respecto al idioma, ya que en ambas la búsqueda se puede realizar también en inglés, y además permiten exportar los resultados en formato Excel. Sin embargo, el número de sustancias activas contenidas en la base de datos de la AEMPS es mucho mayor (aproximadamente, unas 645) que en todas las demás, a pesar de que la base de datos japonesa cuenta con los límites máximos de unas 831 sustancias, ya que en esta se recopilan en la misma base de datos los límites de plaguicidas y de medicamentos de uso veterinario. La base de datos de la AEMPS contiene también los enlaces a las modificaciones normativas concretas. Al final de la tabla se incluyen también las sustancias prohibidas. La última actualización de esta base de datos incluye la última modificación del Reglamento (UE) Nº 37/2010.

Debemos volver a mencionar en este punto la base de datos de residuos de medicamentos de uso veterinario de la que hace uso el servicio exterior del **Departamento de Agricultura** de Estados Unidos (*United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service*), mantenida por un servicio externo al Departamento (BCI, 2022). Esta base de datos incluye más de 400 límites de residuos de medicamentos de uso veterinario de más de 85 países distintos, permitiendo hacer comparaciones entre ellos. Sin embargo, la suscripción gratuita solo permite hacer búsquedas de los límites regulados en Estados Unidos.

En cuanto a organismos internacionales, se pueden citar las bases de datos de medicamentos de uso veterinario del *Codex Alimentarius* y de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Mientras que en el caso de la **base de datos del *Codex*** (Codex database B, 2022) la búsqueda se puede realizar por medicamento de uso veterinario, clase funcional y especie animal implicada, la **base de datos de la FAO** (FAO database, 2022) permite hacer la búsqueda por medicamento, clase funcional, IDA y LMR.

Tabla 3. Bases de datos de límites de residuos de medicamentos de uso veterinario

Bases de datos	Organismo	Datos de interés	Referencia
Veterinary Drugs Database	*Codex Alimentarius*	Idioma: inglés Búsqueda por: medicamento veterinario (79 aprox.), clase funcional (15), especie animal (18) Otros: indica también el tejido y el año de adopción	(Codex database B, 2022)
Residues of some veterinary drugs in foods and animals	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO)	Idioma: inglés Búsqueda por: medicamento veterinario, clase funcional, ADI y LMR Otros: los parámetros de búsqueda se pueden combinar. Aporta información sobre: última evaluación, resumen de la evaluación, reunión de la JECFA donde se aprobó y ficha técnica del producto	(FAO, 2022)
LMR Límites Máximos de Residuos	Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios (AEMPS)	Idioma: español Búsqueda por: sustancias farmacológicamente activas (645 aprox.), residuos marcadores, especie animal, LMR, tejidos implicados, otras disposiciones y clasificación terapéutica Otros: base de datos en formato de tabla. Buscador donde introducir cualquier palabra clave de estos parámetros. Los cuadros que la contengan se resaltarán en amarillo	(AEMPS, 2022)
BC Global	*Bryant Christie INC.* Estados Unidos	Idioma: inglés Búsqueda por: países (85), categorías de alimentos, medicamentos veterinarios (400) Otros: indica detalles de regulación, posibilidad de comparar límites, notificaciones por correo si hay cambios, posibilidad de enviar dudas, cuenta básica gratuita, cuenta de pago $2595	(BCI, 2022)

Tabla 3. Bases de datos de límites de residuos de medicamentos de uso veterinario			
Bases de datos	**Organismo**	**Datos de interés**	**Referencia**
Maximum Residue Limits (MRLs). List of Agricultural Chemicals in Food	*The Japan Food Chemical Research Foundation*	Idioma: japonés e inglés Búsqueda por: parámetro de interés por orden alfabético: (831 aprox.), plaguicidas, medicamentos veterinarios y alimento (cultivo, producto animal y tejido/producto de la pesca, comidas procesadas, aguas minerales y orden alfabético) Otros: misma base de datos que la de plaguicidas	(Japón, 2022)
MRLs in veterinary drugs	*Ministry of Food and Drug Safety* Corea del Sur	Idioma: coreano e inglés Búsqueda por: medicamento veterinario: (300 aprox.) y alimento (230 aprox.)	(Corea del Sur, 2022b)

6.3 Bases de datos de contaminantes (químicos, microbiológicos y radiológicos)

En cuanto a bases de datos de contaminantes únicamente se identificaron 2 (Tabla 4), debiendo destacar por su interés la **base de datos TOLALIM** (AESAN, 2022b), desarrollada por la AESAN, encontrándose, por tanto, en español. Esta base de datos incluye, no solo límites máximos de contaminantes químicos, sino también contaminantes microbiológicos y radiológicos, así como parámetros de interés sanitario como los residuos de contaminantes en los materiales en contacto con los alimentos, siendo esta la única base de datos encontrada que los recoge. La base datos cuenta con instrucciones en las que se explica el funcionamiento y se da un ejemplo de cómo realizar una búsqueda. Se pueden aplicar distintos criterios de búsqueda, pudiendo combinarlos entre ellos para acotar más el resultado. Se puede buscar por parámetro (292), tipo de parámetro (microbiológico, químico o radiológico), grupo de parámetros (25), alimento concreto implicado (255), grupos de alimentos (21), o legislación que aplica (nacional o europea). Al realizar la búsqueda aparece el número de resultados encontrados y una tabla con los datos (parámetros de búsqueda, límites máximos y observaciones incluidas en el documento legal) de todos ellos. Además, esta base de datos permite también exportar los resultados de la búsqueda en formato PDF.

La otra base de datos de contaminantes que se identificó fue la de **BC Global** (BCI, 2022) la cual, como se ha comentado antes, ha desarrollado 4 bases de datos, de plaguicidas, medicamentos veterinarios, de contaminantes y aditivos. Los resultados obtenidos mediante la suscripción gratuita están muy restringidos. Sin embargo, las cuentas que requieren pago agrupan los límites máximos de gran número de países, facilitando en gran medida la comprobación de los distintos cumplimientos legislativos en las exportaciones. Estas cuentas de pago presentan una serie de ventajas, como que indican si los límites van a expirar y cuándo, si está planeado que se modifiquen, así como permitir activar notificaciones que se enviarán por correo electrónico si hay cambios en los valores de los límites, además de poder enviar consultas relativas a la interpretación de los datos. El interés de conocer los límites máximos de otros países radica también en que, si durante las actividades de control oficial las autoridades competentes confirman la presencia de sustancias cuyos límites no están legislados, se puede consultar los límites de un país que si los tenga para poder hacer una estimación de la gravedad de la situación.

Tabla 4. Bases de datos de límites máximos de contaminantes			
Base de datos	**Organización**	**Datos de interés**	**Referencias**
TOLALIM	Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición	Idioma: español. Búsqueda por: parámetro (292 aprox.), tipo de parámetro (microbiológico, químico, radiológico), grupo de parámetro (25), alimento (255 aprox.), grupo de alimento (21) y legislación (nacional/europea)	(AESAN, 2022b)
BC Global	*Bryant Christie INC.* Estados Unidos	Idioma: inglés. Búsqueda por: países (95), categorías de alimentos y contaminantes (80) Otros: indica detalles de regulación, posibilidad de comparar límites, notificaciones por correo si hay cambios, posibilidad de enviar dudas. De pago $3095	(BCI, 2022)

7. Ejemplo de búsqueda en las bases de datos de límites máximos: óxido de etileno en semillas de sésamo

A modo de ejemplo de la utilidad de estas bases de datos se ha realizado la búsqueda del límite máximo de residuos de óxido de etileno en semillas de sésamo (Tabla 5). Al revisar el informe del sistema de alerta de la UE, RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*), y del español, SCIRI (Sistema Coordinado de Intercambio Rápido de Información), del 2020 (RASFF, 2020) (SCIRI, 2020) se vio que la mayor parte de las alertas producidas ese año relativas a peligros químicos se debieron a la presencia de productos fitosanitarios, destacando el caso del óxido de etileno en semillas de sésamo procedentes de la India, que dio lugar a una alerta sanitaria que obligó a la retirada de gran número de productos que las contenían tanto en Europa como en España. Debemos destacar que en la UE el óxido de etileno es una sustancia prohibida en productos fitosanitarios, mientras que en Estados Unidos y Canadá sí está autorizado (en Canadá el estatus ha expirado el 31 de diciembre de 2022, estando vigente en el momento de la alerta).

Tabla 5. Resultados de la búsqueda de óxido de etileno en semillas de sésamo en diversas bases de datos	
Bases de datos	**LMR**
Unión Europea (Unión Europea, 2022)	0,05 mg/kg
Reino Unido (Reino Unido, 2022)	0,05 mg/kg
Estados Unidos (BCI, 2022)	7 mg/kg
Canadá (Canadá, 2022)	7 mg/kg
Otros: Japón (2022), Corea del Sur (2022a), Hong Kong (2022), Malasia (2022), Costa Rica (2022), Nueva Zelanda (2022), Codex database A (2022)	No se recogen límites

El límite de 0,05 mg/kg que presenta tanto en la UE como en el Reino Unido corresponde al límite de detección analítico. Si una sustancia no se autoriza en la UE sus residuos deben ser igualmente evaluados, fijándose unos valores que sean totalmente seguros para el consumidor. La evaluación de esta misma sustancia activa en otra región del mundo con sus particulares características cli-

máticas, sistemas de aplicación o prácticas agrícolas puede resultar en la autorización de su uso en esos países terceros (AESAN, 2022a). Los alimentos que cumplen estos LMR pueden ser legalmente comercializados sin que exista un motivo que prohíba su puesta en el mercado, evitando así conflictos en el comercio de alimentos con terceros países (AESAN, 2022a). Este procedimiento, conocido como "tolerancia a la importación", viene recogido en el Reglamento (CE) Nº 396/2005 (UE, 2005a).

En el resto de países en cuyas bases de datos no aparece el óxido de etileno, no se ha podido determinar si es porque no está legislado su uso, o si es porque no está permitido y, a diferencia de la UE, no incluyen un límite de detección. No se ha podido confirmar si este producto está autorizado en la India y a qué niveles. De las dos únicas bases de datos que recogían los límites de varios países, una de ellas, la de *BC Global*, solo incluía en la cuenta gratuita los límites máximos en Estados Unidos, y la otra, la de Nueva Zelanda, no incluía al óxido de etileno entre los plaguicidas a buscar.

Conclusiones

Como conclusión, según el estudio realizado de todas las bases de datos de Límites Máximos de Residuos de plaguicidas, de residuos de medicamentos veterinarios y de contaminantes, las más completas de cada categoría son:

- Plaguicidas: la base de datos de la Comisión Europea, la cual permite realizar la búsqueda por sustancia activa, producto alimenticio, residuo de plaguicida o por autorizaciones de emergencia, y aporta información sobre los LMR, la legislación que es de aplicación, el periodo de duración de cada autorización, si las sustancias se encuentran o no aprobadas, las fichas de cada sustancia, los países de la UE donde están aprobadas y la información toxicológica de interés. Además, la base de datos permite exportar los datos en un archivo Excel. Se encuentra en inglés
- Medicamentos de uso veterinario: la base de datos de la AEMPS es la que presenta una mayor cantidad de sustancias, sin embargo, el sistema de búsqueda, aunque es sencillo, no es propiamente una base de datos sino una tabla, ya que únicamente resalta en amarillo los resultados, por lo que tendrá que ser el usuario quien después busque cuales son los recuadros resaltados que cumplen con sus criterios de búsqueda. Se encuentra en español.
- Contaminantes: la base de datos TOLALIM de la AESAN ha sido la única base de datos pública que se ha encontrado de esta categoría. Además, es la única que incluye también datos relativos a los límites de microorganismos, residuos de contaminantes en materiales en contacto con los alimentos y contaminación de tipo radiológica. Otra de las ventajas que presenta es que sus datos se pueden exportar en formato PDF. Se encuentra en español.

Referencias

AEMPS (2022). Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Disponible en: https://sinaem.aemps.es/lmrs/ [acceso: 28-04-22].

AESAN (2022a). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Residuos de productos fitosanitarios. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/detalle/residuos_productos_fitosanitarios.htm [acceso: 23-05-22].

AESAN (2022b). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Base de datos de contaminantes y otros parámetros de interés sanitario. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/limites_maximos.htm [acceso: 23-05-22].

Agri-Intel (2022). Agriculture Intelligence. Disponible en: https://www.agri-intel.com/ [acceso: 28-04-22].

BCI (2022). BC Global Inc. Disponible en: http://www.bryantchristie.com/ [acceso: 28-04-22].

BOE (1988). Real Decreto 475/1988, por el que se establecen los límites máximos permitidos de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2, en alimentos para consumo humano. BOE Nº 121 de 20 de mayo de 1988, pp: 15329-15329.

BOE (2010a). Real Decreto 135/2010, por el que se derogan disposiciones relativas a los criterios microbiológicos de los productos alimenticios. BOE Nº 49 de 25 de febrero de 2010, pp: 18297-18299.

BOE (2010b). Real Decreto 1798/2010, por el que se regula la explotación y comercialización de aguas minerales naturales y aguas de manantial envasadas para consumo humano. BOE Nº 16 de 19 de enero de 2011, pp: 6111-6133.

BOE (2010c). Real Decreto 1799/2010, por el que se regula el proceso de elaboración y comercialización de aguas preparadas envasadas para el consumo humano. BOE Nº 17 de 20 de enero de 2011, pp: 6292-6304.

BOE (2020). Real Decreto 1086/2020, por el que se regulan y flexibilizan determinadas condiciones de aplicación de las disposiciones de la Unión Europea en materia de higiene de la producción y comercialización de los productos alimenticios y se regulan actividades exclusivas de su ámbito de aplicación. BOE Nº 322 de 10 de diciembre de 2020, pp: 112779-112816.

BOE (2023). Real Decreto 3/2023, de 10 de enero, por el que se establecen los criterios técnico-sanitarios de la calidad del agua de consumo, su control y suministro. BOE Nº 9 de 11 de enero de 2023, pp: 4253-4354.

Canadá (2022). Base de datos Health Canada. Maximum residue limits search. Disponible en: https://pest-control.canada.ca/pesticide-registry/en/mrl-search.html [acceso: 28-04-22].

Codex (1995). *Codex Alimentarius*. Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos. CXS 193-1995. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193s.pdf [acceso: 23-05-22].

Codex (2018). *Codex Alimentarius*. Límites Máximos de Residuos (LMR) y recomendaciones sobre la gestión de riesgos (RGR) para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. CX/MRL 2-2018. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXM%2B2%252FMRL2s.pdf [acceso: 21-06-22].

Codex (2022). *Codex Alimentarius.* Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/es/ [acceso: 9-01-23].

Codex Database A (2022). *Codex Alimentarius*. Codex online database, pesticide. [Internet]. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/ [acceso: 28-04-22].

Codex Database B (2022). *Codex Alimentarius*. Codex online database, veterinary drugs. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/vetdrugs/veterinary-drugs/en/[acceso:28-04-22].

Corea del Sur (2022a). Base de datos Food safety Korea. MRLs in pesticide. Disponible en: https://residue.foodsafetykorea.go.kr/prd/mrl [acceso: 28-04-22].

Corea del Sur (2022b). Base de datos Food safety Korea MRLs. Disponible en: https://residue.foodsafetykorea.go.kr/vd/mrl [acceso: 28-04-22].

Costa Rica (2022). Servicio fitosanitario del Estado. Disponible en: https://app.sfe.go.cr/ws_FiscalizacionWeb/FrmConsultaLMR.aspx [acceso: 28-04-22].

FAO (1999). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. ¿Qué es el Codex Alimentarius? Disponible en: http://www.fao.org/noticias/1999/codex-s.htm [acceso: 28-04-22].

FAO (2022). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Base de datos. Residues of someveterinary drugs in foods and animals. Disponible en: https://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-vetdrugs/en/ [acceso: 29-04-22].

Homologa (2022). Base de datos. The Global Plant Protection Products Database and Maximum Residue Limits (MRLs). Disponible en: https://v5.homologa.com/en/home [acceso: 28-04-22].

Hong Kong (2022). Base de datos. Pesticide residues in Food regulations. Disponible en: https://www.cfs.gov.hk/english/mrl/index.php [acceso: 28-04-22].

Japón (2022). Base de datos. JFCRF. Japan Food Chemical Research Foundation. Disponible en: https://db.ffcr.or.jp/front/ [acceso: 28-04-22].

Malasia (2022). Base de datos. Pesticide residues in food. Disponible en: https://mymrl.doa.gov.my/ [acceso: 28-04-22].

NHC (2022). Northwest Horticulture Council. Disponible en: https://nwhort.org/ [acceso: 28-04-22].

Nueva Zelanda (2022). Ministry for Primary Industries, New Zealand. MPI pesticide Maximun residue limit database. Disponible en: https://www.mpi.govt.nz/resources-and-forms/registers-and-lists/maximum-residue-levels-database/ [acceso: 28-04-22].

RASFF (2020). The Rapid Alert System for Food and Feed Annual Report 2020. Comisión Europea. Disponible en: https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-08/rasff_pub_annual-report_2020.pdf [acceso: 19-05-22].

Reino Unido (2022). Base de datos. HSE. Health and Safety Executive. Disponible en: https://secure.pesticides.gov.uk/MRLs/search [acceso: 28-04-22].

SCIRI (2020). Memoria del sistema coordinado de intercambio rápido de información (SCIRI) 2020. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/alertas/sciri/MEMORIA_SCIRI_2020.pdf [acceso: 19-05-22].

UE (1993). Reglamento (CEE) Nº 315/93, por el que se establecen procedimientos comunitarios en relación con los contaminantes presentes en los productos alimenticios. DO L 37 de 13 de febrero de 1993, pp: 1-3.

UE (2002). Reglamento (CE) N° 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. DO L 31 de 1 de febrero de 2002, pp: 1-24.

UE (2004). Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DO L 139 de 30 de abril de 2004, pp: 55-205.

UE (2005a). Reglamento (CE) Nº 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo a los límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal y que modifica la Directiva 91/414/CEE del Consejo. DO L 70 de 16 de marzo de 2005, pp: 1-16.

UE (2005b). Reglamento (CE) Nº 2073/2005 de la Comisión, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DO L 338 de 22 de diciembre de 2005, pp: 1-26.

UE (2006). Reglamento (CE) Nº 1881/2006 de la Comisión, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. DO L 364 de 20 de diciembre de 2006, pp: 5-24.

UE (2009). Reglamento (CE) Nº 470/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen procedimientos comunitarios para la fijación de los límites de residuos de las sustancias farmacológicamente activas en los alimentos de origen animal, se deroga el Reglamento (CEE) Nº 2377/90 del Consejo y se modifican la Directiva 2001/82/CE del Parlamento Europeo y del Consejo y el Reglamento (CE) Nº 726/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo. DO L 152 de 16 de junio de 2009, pp: 11-22.

UE (2010). Reglamento (UE) Nº 37/2010 de la Comisión, relativo a las sustancias farmacológicamente activas y su clasificación por lo que se refiere a los límites máximos de residuos en los productos alimenticios de origen animal. DO L 15 de 20 de enero de 2010, pp: 1-72.

UE (2015). Reglamento de Ejecución (UE) Nº 2015/1375 de la Comisión, de 10 de agosto de 2015, por el que se establecen normas específicas para los controles oficiales de la presencia de triquinas en la carne. DO L 212 de 11 de agosto de 2015, pp: 7-34.

UE (2016a). Reglamento Delegado (UE) Nº 2016/127 de la Comisión, que complementa el Reglamento (UE) Nº 609/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a los requisitos específicos de composición e información aplicables a los preparados para lactantes y preparados de continuación, así como a los

requisitos de información sobre los alimentos destinados a los lactantes y niños de corta edad. DO L 25 de 2 de febrero de 2016, pp: 1-29.

UE (2016b). Reglamento Delegado (UE) Nº 2016/128 de la Comisión, que complementa el Reglamento (UE) Nº 609/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a los requisitos específicos de composición e información aplicables a los alimentos para usos médicos especiales. DO L 25 de 2 de febrero de 2016, pp: 30-43.

UE (2016c). Reglamento (Euratom) 2016/52 del Consejo, por el que se establecen tolerancias máximas de contaminación radiactiva de los alimentos y los piensos tras un accidente nuclear o cualquier otro caso de emergencia radiológica, y se derogan el Reglamento (Euratom) Nº 3954/87 del Consejo y los Reglamentos (Euratom) Nº 944/89 y (Euratom) Nº 770/90 de la Comisión. DO L 13 de 20 de enero de 2016, pp: 2-11.

UE (2019a). Reglamento 2019/1871 de la Comisión, relativo a los valores de referencia para las sustancias farmacológicamente activas no autorizadas presentes en los alimentos de origen animal y por el que se deroga la Decisión 2005/34/CE. DO L 289 de 8 de noviembre de 2019, pp: 41-46.

UE (2019b). Reglamento de Ejecución (UE) Nº 2019/627 de la Comisión, por el que se establecen disposiciones prácticas uniformes para la realización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano, de conformidad con el Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo, y por el que se modifica el Reglamento (CE) Nº 2074/2005 de la Comisión en lo que respecta a los controles oficiales. DO L 131 de 17 de mayo de 2019, pp: 51-100.

UE (2020a). Reglamento (UE) 2020/2040 de la Comisión, por el que se modifica el Reglamento (CE) Nº 1881/2006 en lo que respecta al contenido máximo de alcaloides pirrolizidínicos en determinados productos alimenticios. DO L 420 de 14 de diciembre de 2020, pp: 1-4.

UE (2020b). Reglamento de Ejecución (UE) 2020/1158 de la Comisión, relativo a las condiciones de importación de alimentos y piensos originarios de terceros países como consecuencia del accidente ocurrido en la central nuclear de Chernóbil. DO L 257 de 6 de agosto de 2020, pp: 1-13.

UE (2021a). Reglamento (UE) 2021/2142 de la Comisión, por el que se modifica el Reglamento (CE) Nº 1881/2006 en lo que respecta al contenido máximo de alcaloides opiáceos en determinados productos alimenticios. DO L 433 de 6 de diciembre de 2021, pp: 8-10.

UE (2021b). Reglamento de Ejecución (UE) 2021/1533 de la Comisión, por el que se imponen condiciones especiales a la importación de piensos y alimentos originarios de Japón, o expedidos desde este país, a raíz del accidente en la central nuclear de Fukushima, y se deroga el Reglamento de Ejecución (UE) 2016/6. DO L 330 de 20 de septiembre de 2021, pp: 72-85.

Unión Europea (2022). Base de datos. EU Pesticides Database. Disponible en: https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/eu-pesticides-database_en [acceso: 28-04-22].

GOBIERNO DE ESPAÑA
MINISTERIO DE CONSUMO
agencia española de seguridad alimentaria y nutrición