

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

**Estudio higiénico-sanitario de comedores
escolares de la isla de Tenerife**

Autor: Campos Díaz, Julia

**Directores: Ángeles Arias Rodríguez
y Cristobalina Rodríguez Álvarez**

**Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría,
Medicina Preventiva y Salud Pública y Medicina Legal y Forense**

A mi madre y a mi hermana

DÑA. ANGELES ARIAS RODRÍGUEZ Y DÑA. CRISTOBALINA RODRÍGUEZ ALVAREZ, PROFESORAS TITULARES DE MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PÚBLICA DE LA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

CERTIFICAN: que Dña. Julia Campos Díaz, Licenciada en Farmacia , ha realizado, bajo su dirección, el trabajo de investigación titulado *Estudio higiénico-sanitario de comedores escolares de la isla de Tenerife*, el cual reúne las condiciones para ser presentado como **TESIS DOCTORAL**.

Y para que así conste, firmamos la presente en La Laguna a dieciséis de Octubre de dos mil.

Fdo.: Angeles Arias Rodríguez

Fdo.: Cristobalina Rodríguez Álvarez

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna forma, han contribuido a la realización de este trabajo.

A las directoras de este trabajo, Doña Angeles Arias Rodríguez y Doña Cristobalina Rodríguez Álvarez, sin cuya comprensión y ayuda en todo momento no hubiese sido posible la elaboración de este trabajo.

A mis compañeras de MAS CONTROL, por la solidaridad y apoyo que han tenido conmigo en el tiempo dedicado a este estudio.

A mis compañeros del Área de Medicina Preventiva y Salud Pública.

A mis compañeros del Servicio de Microbiología y Parasitología y de Medicina Preventiva del Hospital Universitario de Canarias.

A la Unidad de Nutrición del Hospital Nuestra Señora de la Candelaria.

Un especial agradecimiento a mi abuela Ermendina por su constante ánimo y fe en mí.

Por último, expresar mi más sincero reconocimiento al cariño y aliento recibidos por mi madre y mi hermana en los momentos más difíciles. Así como a Loren por su empuje y encomiable aportación en la elaboración de esta tesis.

A todos mi agradecimiento más profundo.

I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	1
II. REVISIÓN Y ANTECEDENTES	
II.1. COMEDORES ESCOLARES.....	5
II.1.1. Introducción	5
II.1.2. Comedores de centros docentes.....	12
II.1.3. Legislación de comedores colectivos.....	17
II.1.3.1. Regulación de comedores escolares.....	17
II.1.3.2. Legislación de comedores escolares de gestión directa.....	21
II.1.3.3. Legislación de comedores escolares de gestión contratada.....	30
II.2. HIGIENE ALIMENTARIA.....	37
II.2.1. Introducción.....	37
II.2.2. Cadena alimentaria.....	39
II.2.3. Alteración y conservación.....	44
II.2.4. Modelo de predicción de crecimiento.....	59
II.2.4.1. Cinética del crecimiento microbiano.....	60
II.2.5. Microorganismos.....	66
II.2.5.1. Aerobios mesófilos totales.....	66
II.2.5.2. <i>Enterobacteriaceae</i> totales.....	69
II.2.5.3. <i>Escherichia coli</i>	76
II.2.5.4. <i>Salmonella spp</i>	88
II.2.5.5. <i>Staphylococcus spp</i>	103
II.2.5.6. <i>Enterococcus spp</i>	117
II.2.5.7. <i>Clostridium perfringens</i>	122
II.2.5.8. <i>Clostridium botulinum</i>	130
II.2.6. Técnicas rápidas de diagnóstico.....	146
II.2.7. Indicadores.....	157
II.2.8. Importancia actual de las infecciones e intoxicaciones alimentarias de origen microbiano.....	160
II.2.9. Análisis de peligros y puntos de control crítico.....	167
II.2.10. Higiene del manipulador.....	178

II.2.10.1. Generalidades.....	178
II.2.10.2.. Legislación de manipuladores de alimentos.....	182
II.2.11. Higiene de los locales.....	185
II.2.11.1. Generalidades.....	185
II.2.11.2. Legislación de los locales.....	189
II.2.12. Educación en higiene.....	192
II.3. NUTRICIÓN ESCOLAR.....	198
II.3.1. Los nutrientes.....	198
II.3.2. Dieta equilibrada.....	213
II.3.3. Introducción del estado nutricional.....	220
II.3.4. Alimentación en la etapa preescolar.....	222
II.3.5. Alimentación en la etapa escolar.....	224
II.3.6. Propuesta de menús escolares.....	238
II.3.7. Educación nutricional en el medio escolar.....	240
III. MATERIAL Y METODOS	
III.1. INTRODUCCION.....	245
III.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS	
SERVIDOS EN COMEDORES ESCOLARES.....	246
III.2.1. Muestreo.....	246
III.2.1.1. Selección de colegios a incluir en el estudio.....	246
III.2.1.2. Recogida de muestras de alimentos en los colegios seleccionados.....	255
III.2.2. Preparación de las muestras para análisis y homogeneización.....	258
III.2.2.1. Preparación de las diluciones decimales.....	260
III.2.3. Técnicas para análisis microbiológico de los alimentos.....	261
III.2.3.1. Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos.....	263
III.2.3.2. Recuento de <i>Enterobacteriaceae</i> totales.....	264
III.2.3.3. Recuento de <i>Enterobacteriaceae</i> lactosa positiva.....	266
III.2.3.4. Recuento de <i>Escherichia coli</i>	268

III.2.3.5. Recuento del género <i>Salmonella</i>	276
III.2.3.6. Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	282
III.2.3.7. Recuento de <i>Clostridium</i> sulfito-reductores.....	285
III.2.3.8. Recuento de <i>Enterococcus spp.</i>	286
III.3. ANÁLISIS DE PELIGROS Y PUNTOS DE CONTROL CRÍTICO	
DE COMEDORES ESCOLARES	288
III.3.1. Selección de colegios.....	288
III.3.2. Recogida de datos.....	290
III.4. ANÁLISIS NUTRICIONAL DE LOS MENÚS DE COMEDORES	
ESCOLARES	295
III.4.1. Selección de colegios.....	295
III.4.2. Método por pesada.....	295
III.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	
III.5.1. Análisis microbiológico.....	297
III.5.2. Análisis nutricional.....	298
IV. RESULTADOS	
IV.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	299
IV.1.1. Aerobios mesófilos totales.....	299
IV.1.1.1. Gestión directa.....	299
IV.1.1.2. Gestión contratada.....	306
IV.1.2. <i>Enterobacteriaceae</i> totales.....	310
IV.1.2.1. Gestión directa.....	310
IV.1.2.2. Gestión contratada.....	315
IV.1.3. Coliformes totales.....	318
IV.1.3.1. Gestión directa.....	318
IV.1.3.2. Gestión contratada.....	322
IV.1.4. Coliformes fecales.....	325

IV.1.3.1. Gestión directa.....	325
IV.1.3.2. Gestión contratada.....	331
IV.1.5. <i>Salmonella spp.</i>	335
IV.1.6. <i>Staphylococcus spp.</i>	336
IV.1.7. <i>Clostridium spp.</i>	338
IV.1.8. <i>Enterococcus spp.</i>	339
IV.1.8.1. Gestión directa.....	339
IV.1.8.2. Gestión contratada.....	342
IV.2. ANÁLISIS DE PELIGROS Y PUNTOS DE CONTROL CRÍTICO....	344
IV.2.1. Colegios de gestión directa.....	344
IV.2.2. Colegios de gestión contratada.....	353
IV.3. ESTUDIO NUTRICIONAL.....	359
 V. DISCUSIÓN	
<i>V.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....</i>	<i>363</i>
V.1.1. INTRODUCCIÓN.....	363
V.1.2. AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES.....	368
V.1.2.1. Muestras con aerobios mesófilos totales según el tipo de gestión.....	368
V.1.2.2. Muestras con aerobios mesófilos totales por platos según el tipo de gestión.....	369
V.1.2.3. Muestras con aerobios mesófilos totales según el tratamiento térmico en gestión directa.....	371
V.1.2.3.1. Platos calientes.....	374
V.1.2.3.2. Platos fríos.....	376
V.1.2.4. Muestras con aerobios mesófilos totales en gestión contratada....	379
V.1.3. <i>ENTEROBACTERIACEAE</i> TOTALES.....	382
V.1.3.1. Muestras con <i>Enterobacteriaceae</i> totales según el tipo de gestión.....	382
V.1.3.2. Muestras con <i>Enterobacteriaceae</i> totales por platos según el	

tipo de gestión.....	383
V.1.3.3. Muestras con <i>Enterobacteriaceae</i> totales según el tratamiento térnico en gestión directa.....	385
V.1.3.3.1. Platos calientes.....	385
V.1.3.3.2. Platos fríos.....	387
V.1.3.4. Muestras con <i>Enterobacteriaceae</i> totales en gestión contratada..	390
V.1.4. COLIFORMES FECALES.....	394
V.1.4.1. Muestras con coliformes fecales según el tipo de gestión.....	394
V.1.4.2. Muestras con coliformes fecales por platos según el tipo de gestión.....	396
V.1.4.3. Muestras con coliformes fecales según el tratamiento térmico en gestión directa.....	398
V.1.4.3.1. Platos calientes.....	399
V.1.4.3.2. Platos fríos.....	402
V.1.4.4. Muestras con coliformes fecales en gestión contratada.....	406
V.1.5. <i>SALMONELLA SPP</i>	412
V.1.6. <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	414
V.1.7. <i>CLOSTRIDIUM SPP</i>	417
V.1.8. <i>ENTEROCOCCUS SPP</i>	418
V.1.8.1. Muestras con <i>Enterococcus spp</i> según el tipo de gestión.....	418
V.1.8.2. Muestras con <i>Enterococcus spp</i> por platos según el tipo de gestión.....	418
V.1.8.3. Muestras con <i>Enterococcus spp</i> según el tratamiento térmico en gestión directa.....	420
V.1.8.3.1. Platos calientes.....	420
V.1.8.3.2. Platos fríos.....	421
V.1.8.4. Muestras con <i>Enterococcus spp</i> en gestión contratada.....	423
 V.2. ANÁLISIS DE PELIGROS Y PUNTOS DE CONTROL CRÍTICO.....	 426
 V.3. ESTUDIO NUTRICIONAL.....	 434

VI. CONCLUSIONES..... 443

VII. BIBLIOGRAFÍA..... 447

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

En la actualidad, un gran porcentaje de la población escolar de nuestro entorno realiza la comida principal en su centro de enseñanza. Los comedores escolares y la restauración colectiva adquieren una especial importancia, por estar ésta dirigida y ser utilizada por un grupo de población tipificado como colectivo vulnerable.

Los comedores escolares tienen como misión fundamental asegurar los aportes nutricionales adecuados y que los alimentos lleguen al niño en óptimas condiciones higiénico-sanitarias.

El crecimiento y desarrollo de los niños viene condicionado por la alimentación que reciben, originando el exceso o defecto de algunos nutrientes ciertas manifestaciones patológicas (obesidad, caries dental, anemias, etc.). Una alimentación correcta no significa sólo ingerir una determinada cantidad de nutrientes sino el conjunto de un equilibrio entre los distintos principios inmediatos que permitan una oportuna regeneración del organismo y le aporten la energía necesaria para vivir. Una alimentación correcta viene definida por la moderación, la variedad y el equilibrio.

Cuando se pretende estudiar el comportamiento alimentario en un grupo de individuos y llevar a cabo una educación nutricional, el período óptimo es la infancia y la adolescencia, ya que es precisamente a estas edades cuando más se suelen crear hábitos y actitudes que van a constituir la base del futuro comportamiento alimentario.

Las características del comedor escolar hacen necesario extremar el cuidado en las raciones aportadas, de manera que garanticen ingestas de seguridad para todos los niños. Se aconseja aportar el 25% de las calorías en el desayuno, para así atender la actividad física e intelectual del niño en la escuela. Durante la comida se aportará

el 30% del total calórico y no más, con el fin de evitar la somnolencia postprandial que puede llegar a causar dificultades en el aprendizaje.

El control de calidad del comedor escolar comienza con la supervisión del suministro de alimentos en cantidades físicas o el cuidado de los platos preparados. En la confección de los menús, es importante conocer los métodos culinarios y todos los ingredientes que se utilizan en su preparación y recabar la máxima información posible sobre las preferencias alimentarias de los escolares para intentar recomendar o aportar aquellos alimentos que, siendo mejor aceptados, contribuyan de manera adecuada a un patrón alimentario saludable.

Todas las personas tienen derecho a esperar que los alimentos que comen sean inocuos y aptos para el consumo. Las enfermedades de transmisión alimentaria y los daños provocados por los alimentos son, en el mejor de los casos, desagradables, y en el peor pueden ser fatales. Es imprescindible un control eficaz de la higiene, a fin de evitar las consecuencias perjudiciales que derivan de las enfermedades y los daños provocados por los alimentos y por el deterioro de los mismos para la salud y la economía.

Una vez situado el menú en disposición de ser suministrado, es fundamental vigilar sus características organolépticas, su calidad higiénico-sanitaria y los procedimientos empleados en el tiempo desde su preparación hasta su consumo.

Una vez que el alimento está listo para su consumo, su análisis microbiológico puede informarnos acerca del resultado real de todo el proceso, ya que la presencia de determinados microorganismos en los alimentos es una medida de su calidad sanitaria y además un indicador de la incorrección de las manipulaciones efectuadas.

En el documento *Oportunidades para mejorar la nutrición a través del catering (O.M.S.)* reza que “la OMS ha adoptado una posición de máximo interés (en Europa) en lo que al catering se refiere, considerándolo como uno de los más

importantes instrumentos para la dotación de las políticas nutricionales dado el tamaño del sector y su crecimiento posible”.

En el mismo documento, la OMS señala tres áreas de gran potencial para mejorar la nutrición en Europa:

- Sistemas de catering para los niños en la edad escolar
- La alimentación en los lugares de trabajo
- La restauración colectiva en las residencias de ancianos

Por éstas y otras razones al encontrarnos con un colectivo tan vulnerable y sobre el cual la alimentación desempeña un papel claro en el crecimiento y desarrollo, el comedor escolar debe desempeñar una función importante. Los menús proporcionados en el comedor deben reunir unos requisitos tanto desde el punto de vista higiénico-sanitario como desde el punto de vista nutricional, con una contribución importante a la ingesta diaria que les asegure una ración de seguridad mínima.

Al realizar este estudio nos planteamos los objetivos siguientes:

- ♦ Estudiar la calidad microbiológica de las comidas servidas en los colegios públicos de Tenerife, determinando los parámetros reflejados en la normativa vigente.
- ♦ Detectar microorganismos patógenos en estas comidas.
- ♦ Estudiar la diferencia en los parámetros estudiados entre los comedores donde se elabora la comida y en aquellos que les sirve un catering.
- ♦ Determinar si existen diferencias entre los distintos platos analizados según la gestión del comedor.
- ♦ Determinar si existen diferencias entre los distintos tipos de platos servidos en los comedores escolares.
- ♦ Valorar las características nutricionales de los menús ofrecidos por el comedor al escolar.

- ♦ Identificar y valorar los peligros, ya sean de naturaleza biológica, química y física, que afectan adversamente a la inocuidad de los alimentos y vigilar los procedimientos empleados en el tiempo desde su preparación hasta su consumo.

REVISIÓN Y ANTECEDENTES

II.1. COMEDORES ESCOLARES

II.1.1. INTRODUCCIÓN

Durante la edad evolutiva la alimentación desempeña un papel clave en el crecimiento y desarrollo del niño. Proporciona los nutrientes necesarios para mantener las estructuras y tejidos del organismo (proteínas, calcio, agua); la energía imprescindible para el metabolismo corporal y para realizar la actividad física diaria (hidratos de carbono y grasas) y también es fuente de elementos reguladores de gran relevancia, incluso cuando son requeridos en cantidades muy pequeñas (vitaminas, minerales, oligoelementos) (Aranceta, 1995).

Es difícil delimitar la influencia de la nutrición sobre el desarrollo intelectual del niño sin tener en cuenta otros factores ambientales que intervienen simultáneamente. Se sabe que las situaciones de malnutrición prolongadas durante mucho tiempo modifican las capacidades intelectuales y algunos estudios sugieren que los niños que acuden al colegio sin desayunar obtienen un peor rendimiento en sus actividades escolares (McLaren, 1991; Pollit, 1995).

La edad escolar constituye un período estable en el proceso de crecimiento y desarrollo. En esta etapa la alimentación debe proporcionar un balance positivo de nutrientes estructurales con el fin de satisfacer la acumulación de energía que precede al brote puberal. También tiene que permitir realizar un nivel importante de actividad física y ser adecuada para que el niño desarrolle satisfactoriamente sus actividades escolares y sociales (Hernández, 1993; Aranceta, 1995).

Probablemente, los hábitos alimentarios y el estado nutricional de la madre incluso en períodos anteriores a la gestación, pero sobre todo durante el embarazo y la lactancia, condiciona en buena parte el potencial de salud del nuevo ser. La alimentación recibida por el niño en los primeros años de vida, en la edad escolar y en la adolescencia es un importante factor que condiciona la expresión potencial de

su crecimiento, desarrollo y estado de salud, no sólo durante la edad evolutiva, sino también en la edad adulta y tal vez en la vejez (Aranceta, 1996).

Los comedores de centros docentes y la restauración colectiva dirigida a estudiantes tiene una especial importancia desde el punto de vista de la Salud Pública, puesto que se trata de comedores sociales utilizados por un grupo de población tipificado como colectivo vulnerable (WHO-EURO, 1987). Los aportes alimentarios en este marco deben ser adecuados cuantitativamente para satisfacer las necesidades de energía y nutrientes; su estructura cualitativa debe estar en sintonía con las actuales orientaciones para la promoción de la salud y al mismo tiempo, deben contribuir a la educación nutricional de los niños y jóvenes. Para que este esquema sea operativo es necesario coordinar los diferentes elementos que integran el comedor escolar: el menú, el utillaje, el recinto de cocina y el recinto del comedor, y por supuesto la atención al usuario. Los responsables del servicio de cocina y comedor desempeñan un papel fundamental en este entramado.

La restauración colectiva social en el marco de los centros de enseñanza ha cumplido a lo largo del tiempo una doble función: aportar la comida principal a los alumnos pertenecientes a familias con escasos recursos económicos y ofertar también esta prestación a los alumnos cuyo domicilio quedaba alejado del centro docente.

Desde hace ya algunos años se ha resaltado el papel de la dieta en relación con las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y otras patologías crónicas. Como consecuencia, diferentes instituciones y asociaciones profesionales han publicado guías y orientaciones dietéticas que faciliten la modificación racional de los hábitos de consumo alimentario como medio de promoción de la salud (Aranceta, 1995).

El comedor escolar debe cumplir las mismas funciones en los centros docentes de todos los países. Es obvio que debe proporcionar menús nutricionalmente adecuados a las características de los niños, con una contribución importante a la ingesta diaria que represente una ración de seguridad mínima, pero también debe desempeñar una función docente importante. El comedor escolar ofrece una oportunidad de gran valor para experimentar y poner en práctica

actividades de educación nutricional y que al mismo tiempo contribuyan a enriquecer y dinamizar el tiempo de descanso del niño al mediodía (Aranceta, 1993).

Los hábitos de vida y las costumbres varían en los diferentes contextos sociales, económicos y culturales. Por ello, no en todos los países es habitual que los niños consuman una ración en el colegio. Incluso, en muchos países los niños llevan la comida preparada de casa para su ingesta en la escuela, que en muchas ocasiones no dispone de un espacio dedicado específicamente para ello.

Países como Finlandia, Gran Bretaña y EEUU disponen de programas oficiales, soportados por un marco legal, que detalla de manera explícita los requisitos mínimos que deben cumplir los menús escolares, tanto desde el punto de vista higiénico-sanitario, como desde el punto de vista nutricional.

En estos países, las comidas aportadas al mediodía en las escuelas deben proporcionar la tercera parte de las ingestas recomendadas para los niños en edad escolar para la energía, proteínas y nutrientes críticos. Su principal cometido es garantizar unos aportes mínimos satisfactorios para evitar déficit nutricionales.

El Programa de Comidas Escolares en EEUU iniciado en 1946, alcanza al 92% de los niños escolarizados. Habitualmente en los comedores, los niños pueden elegir entre varios platos diferentes. Los comedores adscritos al programa deben incluir entre sus opciones determinados platos obligatoriamente y al mismo tiempo están limitadas o prohibidas otras preparaciones y alimentos. En la práctica sólo participan en el programa el 56% de los escolares, lo que ha obligado a los responsables a preguntarse cuál es el motivo (Crockett & Sims, 1995).

En la tabla 1 se muestran distintos aspectos comparativos de la restauración colectiva en los centros de enseñanza en varios países. La mayor parte disponen de normas legales que regulan aspectos higiénico-sanitarios, administrativos y de gestión en relación con los servicios de comedor escolar. Sin embargo, carecen de orientaciones dietéticas específicas y requisitos mínimos en este sentido. En países

como Holanda o Luxemburgo existen guías dietéticas para la población general que en algunos casos intentan aplicar unilateralmente a los menús del colegio.

Tradicionalmente en los países del área mediterránea la ración del desayuno en los niños consistía en leche y galletas o pan y no se consideraba una comida principal. Por el contrario, en el norte de Europa en muchas ocasiones es una comida caliente que incluye huevos, carne, cereales, verduras, leche e incluso legumbres.

En el estudio de Andradas a 942 niños de seis colegios públicos se encuentra que la mayoría de ellos desayunan leche, siendo éste el único alimento en el desayuno para un 30% de los niños. El 7% de ellos no desayuna.

Tabla 1. Aspectos comparativos de la restauración colectiva en los centros de enseñanza de varios países.

PAISES	Desayuno	Media mañana	Comida	Tiendas Cafeterías Máquinas
PAÍS VASCO	No	Llevan de casa Leche	Muchos sí	No
FRANCIA	No	No*	Sí	Algunos
ITALIA	No	Leche	Sí También de casa	Máquinas
PORTUGAL	No	Leche	Sí También de casa	Tienda
GRECIA	No	No*	Algunos privados	Sí
LUXEMBURGO	No	Leche	Pocos	Máquinas
BÉLGICA	Algunos	No	Algunos También de casa	Máquinas
HOLANDA	No	No	Sí También de casa	Sí
ALEMANIA	Algunos	No	Comida fría	Sí
GRAN BRETAÑA	Algunos	Llevan de casa	Escocia: caliente Inglaterra: fría	Sí
DINAMARCA	Algunos	No*	Pocos Llevan de casa	Sí
FINLANDIA	No	No*	Sí	Algunos
IRLANDA	Algunos	Llevan de casa Leche	De casa Algunos	Pocos
EEUU	Sí	No	Sí* También de casa	Sí

* Los niños adquieren comida en tiendas y máquinas.

En EEUU además del programa de comidas del mediodía, existe otro programa paralelo y coordinado con el anterior para suministrar desayunos en los centros de enseñanza a los niños desde 1966. En este caso, el desayuno debe contribuir con un mínimo del 25% de las ingestas recomendadas. La tasa de participación en este programa se reduce al 20% de los escolares, y de ellos el 87% son considerados “niños de riesgo” (Crockett & Sims, 1995).

Al igual que en nuestro medio, los niños de mayor edad son los que más a menudo tienden a suprimir la ración del desayuno. Se ha visto en distintos trabajos que los aportes con el desayuno tienen un impacto positivo sobre el estado nutricional de los niños, sobre su salud y crecimiento y también sobre una mejor ejecución y desarrollo de sus capacidades cognitivas (Pollit, 1995). Los niños que no desayunan realizan ingestas energéticas y también de calcio más bajas puesto que parece no pueden compensar adecuadamente esta ración suprimida con los aportes realizados a lo largo del día (Aranceta et al, 1989).

En muchos países de la Unión Europea se aporta leche a media mañana o en el comedor, especialmente a los niños más pequeños. Tan sólo parece habitual en nuestro medio que muchos niños lleven algo de casa para comer a media mañana. Sería deseable que esta pequeña ración consistiera en un pequeño bocadillo preparado en casa o una pieza de fruta, en lugar de productos de bollería y pastelería consumidos con tanta frecuencia en la actualidad.

La planificación de los menús que se ofrecen en casi todos los países corre a cargo de los directores de los centros, de los profesores encargados del comedor o de las cocineras, todos ellos profesionales con muy buena disposición pero sin formación específica para este cometido.

En países del norte de Europa y también Italia y Portugal, además de EEUU, es frecuente que muchos niños lleven la comida preparada de su casa y la consuman en el aula junto a sus compañeros. Máquinas expendedoras, cantinas, tiendas y cafeterías son recursos habituales en los centros docentes de estos países, donde los niños pueden adquirir libremente el producto que deseen en cualquier momento del

día escolar. Generalmente los únicos alimentos disponibles en este tipo de establecimientos son refrescos, chocolate, golosinas, snacks y dulces.

En nuestro entorno hasta la década de los años 70 predominaron los comedores con cocina autónoma, gestionados por el propio centro docente, colegios privados o a cargo de personal dependiente de distintas instituciones. El personal de cocina o algún docente actuaban como encargados del aprovisionamiento, confección de menús y en general, de la gestión del comedor.

A partir de 1980 comienzan a introducirse de manera decidida distintas empresas de restauración colectiva que asumen, con diferentes modalidades de oferta, el suministro de alimentos, platos preparados, personal de cocina, personal auxiliar e incluso la totalidad de la gestión de los servicios del comedor. Esta dinámica se ha venido consolidando en centros de enseñanza, centros sanitarios, instituciones geriátricas y comedores de empresa.

En el año 1984 la Unidad de Nutrición Comunitaria del Servicio de Salud Pública del Ayuntamiento de Bilbao inició un estudio sobre las características e infraestructura de los comedores escolares de los colegios públicos de Bilbao, con especial atención a la oferta nutricional en el marco del comedor y las raciones extraescolares. En aquel curso escolar utilizaban los servicios del comedor escolar en los colegios públicos 2265 alumnos, repartidos en 18 comedores, con una asistencia media de 125 alumnos/comedor/día, lo que representaba el 7% de la población total escolarizada en colegios públicos de Bilbao (Aranceta et al, 1986).

Posteriormente, en el año 1987 se puso en marcha un proyecto de evaluación del estado nutricional de la población escolar de la Villa de Bilbao, considerando los colegios públicos y privados. En 1987 se suministraban 3200 raciones diarias en 26 centros docentes y se pudo apreciar una mejora sustancial en la organización y en los aportes nutricionales ofertados en los comedores. En este trabajo participaron 767 niños y niñas entre 6 y 14 años (Aranceta, 1988).

La Orden del Ministerio de Educación de 24 de Noviembre de 1992 (BOE de 8 de diciembre de 1992) con las correcciones en la Orden de 30 septiembre de 1993, dispone la regulación de los comedores escolares en nuestro país.

En los centros públicos de Tenerife la gestión de los comedores tradicionales es competencia del Ministerio de Educación y Ciencia en su Dirección General de Promoción Educativa.

II.1.2.COMEDORES DE CENTROS DOCENTES

En la actualidad, más del 20% de la población escolar de nuestro entorno realiza la comida principal en su centro de enseñanza, y cerca de un 30% de los estudiantes universitarios consumen la comida del mediodía en torno a empresas de restauración social o comercial. En el caso de los estudiantes universitarios, las raciones se consumen en el comedor universitario, cafeterías, restaurantes o más recientemente a partir de máquinas expendedoras.

Las guarderías infantiles desarrollan una función social importante que, con la progresiva incorporación de la mujer a la vida laboral activa fuera del hogar, cada vez adquiere mayor relevancia. A estos centros acuden principalmente niños con edades comprendidas entre los 0 y los 5 años, y una buena parte de ellos utiliza habitualmente los servicios de comedor.

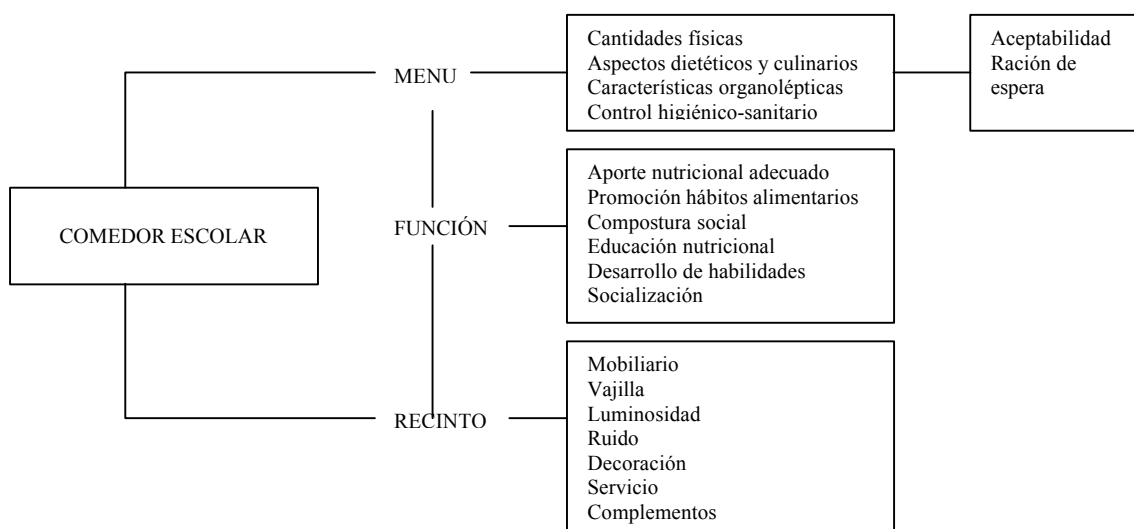
En el campo de la salud pública, los comedores de centros docentes y la restauración colectiva dirigida a estudiantes adquiere una especial importancia por ser utilizada por un grupo de población tipificado como colectivo vulnerable. En el marco docente donde se ubican estos comedores sociales los aportes alimentarios deben cubrir cuidadosamente las necesidades cuantitativas de energía y nutrientes, permitir desde un punto de vista cualitativo la promoción de la salud y ejercer implícita o explícitamente de taller práctico donde se plasmen diariamente buenos hábitos alimentarios.

Para que este planteamiento operativo pueda llevarse a cabo de una manera satisfactoria, es necesario adecuar entre sí los diferentes elementos que lo integran: menú, utillaje, recinto de cocina y recinto del comedor. En la figura 1 se describe el esquema integrador de las distintas fases de que consta el programa de vigilancia nutricional de comedores escolares de la Villa de Bilbao (Aranceta, 1992 y 1993).

El control de calidad comienza con la supervisión del suministro de alimentos en cantidades físicas o el control de los platos preparados. En la confección de los menús, es importante conocer los métodos culinarios y todos los ingredientes que se

utilizan en su preparación. Una vez situado el menú en disposición de ser suministrado al usuario, conviene vigilar sus características organolépticas, su calidad higiénico-sanitaria, los procedimientos empleados en el tiempo de espera (preparación-consumo) y grado de aceptabilidad que alcanza entre el colectivo consumidor. Todos estos aspectos producen una retroalimentación que induce una mejora permanente de la calidad del menú (Aranceta, 1996).

Figura 1: Esquema de funcionamiento de comedores escolares



Los comedores de centros docentes tienen la misión principal de asegurar aportes nutricionales adecuados a las características de los usuarios, pero deben influir positivamente en otros aspectos no menos importantes:

- a) promoción de hábitos alimentarios saludables
- b) marco de compostura social
- c) marco de educación nutricional
- d) centro de desarrollo de habilidades
- e) marco de socialización y convivencia.

El recinto del comedor colectivo juega también un papel importante. La ingesta debe realizarse en un marco físico agradable, sin lujos, pero sin permitir estímulos negativos que entorpezcan un paréntesis gratificante dentro de las actividades escolares (Aranceta, 1992).

El ambiente de las comidas es un elemento importante de la calidad de los comedores escolares. A menudo estos comedores funcionan en amplios locales, no siempre destinados para este uso, demasiado grandes y demasiado ruidosos, donde es difícil imponer el respeto de un mínimo de disciplina. Una comida tomada en un ambiente así es nociva: el niño, en medio de una jornada escolar ya bien apretada, necesita un poco de calma y tranquilidad; la calidad de la comida ganará con ello y su aspecto educativo también (Deschamps, 1997).

Las mesas deben tener unas medidas familiares: seis cubiertos por mesa es lo ideal, ocho lo máximo, y no pasar de ahí.

En el comedor escolar el niño adquiere comportamientos alimentarios que conservará en el futuro. Adquiere también comportamientos sociales que lo marcarán de forma duradera. Si el ambiente es bueno, aprenderá a compartir equitativamente y a respetar a los demás. Si el equipo humano es malo o deficiente, aprenderá que se puede formar una “banda” con los más fuertes y molestar a los más débiles. El papel educativo de las comidas escolares supera, con mucho, los aspectos nutricionales (Deschamps, 1997).

Los responsables del servicio de comedor, los cocineros y el personal auxiliar desempeñan un papel clave, con el carnet de manipulador de alimentos vigente. Es preciso contar, por lo menos, con un monitor de vigilancia y una persona de servicio para cada cuarenta niños. Este personal debe contribuir al buen ambiente de la comida, asegurar una disciplina suave (y no imponer el silencio), ocuparse del lavado de las manos, el respeto equitativo de las porciones.

La política de producción en los comedores escolares está totalmente discutida. Hay quien opina que el sistema tradicional de cocina in situ es incuestionable, pero es evidente que en la mayoría de los colegios la comida transportada eleva las exigencias de un riguroso control higiénico-sanitario. Por otra parte, sistemas de cocina en frío y regeneración en el lugar de consumo son los menos, por el coste que implican y los riesgos de rechazo de la comida servida. Pese a todo hay ya cierta tendencia a minimizar en las nuevas construcciones las

inversiones en equipamiento de cocinas, pensando en abordar el servicio de alimentación desde el punto de vista del suministro externo.

Cada vez es mayor el número de comedores escolares que contrata los servicios de empresas de catering. Las compañías de este sector que siguen procesos productivos y de control de calidad adecuados pueden optar a las certificaciones ISO-9000 e ISO-9002, concedidas por el *Bureau Veritas Quality Internacional* (Suiza). Para optar a estas certificaciones la empresa debe incorporar a su sistema de trabajo un protocolo de análisis de peligros y puntos de control críticos en la higiene y seguridad alimentaria en su empresa; se trata de estándares de calidad muy rigurosos.

La Federación Europea de Restauración Colectiva (FERCO) se encarga de mejorar todos los aspectos profesionales de la restauración colectiva en Europa y la Federación Española de Asociaciones de Restauración Social (FEARDS) en España.

El sector del catering, consciente de su creciente protagonismo en los centros de enseñanza y del papel destacado que desempeña, también quiere adaptarse a las nuevas demandas y tomar parte en el funcionamiento integral de los comedores.

El Consejo Escolar responsable de la contratación debería recibir como mínimo tres ofertas de distintas empresas de restauración colectiva. A su vez estas empresas deberían estar acreditadas por los Departamentos de Educación en cuanto al cumplimiento de un protocolo de normas sobre materias primas, cualificación del personal, higiene y seguridad alimentaria, calidad de los menús, servicio de distribución y reconstitución de los menús, emplatado y servicio del comedor, otras virtudes complementarias como la aportación de educadores de comedor y actividades de apoyo docente en temas de educación nutricional.

Las empresas de catering deberían contar con un dietista/nutriólogo y estar capacitadas para cumplir las pautas propuestas por los Servicios de Salud Escolar y/o Promoción de la Salud.

En los últimos años han ido apareciendo en los centros escolares máquinas expendedoras. Generalmente este tipo de aparatos distribuye refrescos, aperitivos salados como patatas fritas, chocolatinas y pastelitos o productos de confitería. Sería deseable que se aprovechara esta oportunidad para poner al alcance de los niños productos más interesantes desde el punto de vista nutricional, como fruta, raciones de ensalada, bocadillos tradicionales de tortilla, queso, vegetales, yogures, batidos, leche, agua, etc. Todos estos productos deben mantenerse refrigerados a una temperatura de 3°C.

II.1.3. LEGISLACIÓN DE COMEDORES COLECTIVOS

En la actualidad existen una serie de normas legales que hacen referencia al funcionamiento de los comedores colectivos y en concreto a los servicios de comedor escolar. Estas normas se refieren al control higiénico-sanitario de los recintos y servicios de restauración colectiva y manipuladores de alimentos.

II.1.3.1. REGULACIÓN DE COMEDORES ESCOLARES

La Orden del Ministerio de Educación de 24 de Noviembre de 1992 (BOE de 8 de diciembre de 1992) dispone **la regulación de los comedores escolares**. Correcciones: Orden de 30 de septiembre de 1993 (BOE 12 octubre 1993).

Los centros docentes públicos dependientes del Ministerio de Educación y Ciencia que impartan enseñanzas en los niveles obligatorios y/o de Educación Infantil podrán prestar el servicio de comedor escolar siempre que cuenten con las instalaciones y los medios necesarios para proporcionarlo. Este servicio comprenderá la comida de mediodía y, en determinados supuestos, el desayuno.

Los Consejos Escolares de los Centros podrán solicitar del respectivo Director provincial de Educación y Ciencia la autorización del servicio de comedor escolar en su centro, basando su petición de creación del servicio en las necesidades de escolarización del alumno y/o socioeconómicas de sus familias.

Será imprescindible que el Consejo Escolar del Centro se comprometa a garantizar la correcta organización y funcionamiento del comedor escolar.

El servicio de comedor podrá ser solicitado por todos los alumnos que deseen hacer uso del mismo. El coste diario del servicio de comedor escolar será a cargo de los usuarios del mismo, excepto en los casos en que tengan derecho a esta prestación gratuita de acuerdo con la legislación vigente.

Podrán también utilizar el servicio de comedor escolar, mediante el pago del importe del cubierto, los profesores y el personal no docente del Centro. No obstante, no habrá lugar a dicho pago siempre que desempeñen labores de asistencia y cuidado del alumnado en el comedor y en los períodos de recreo anterior y posterior al mismo. En todo caso, el menú será el mismo de los alumnos sin que proceda admitir ningún tipo de extra.

La gestión del servicio de comedor escolar podrá realizarse por cualquiera de las siguientes formas:

- a) Mediante concesión del servicio a una empresa del sector
- b) Contratando el suministro diario de comidas elaboradas y, en su caso, su distribución y servicio con una empresa del sector.
- c) Gestionando el centro, directamente, el servicio por medio del personal laboral contratado al efecto por el órgano competente, adquiriendo los correspondientes suministros y utilizando sus propios medios instrumentales.
- d) Concertando el servicio con los respectivos ayuntamientos que estén interesados en ello y estableciendo una fórmula de gestión concertada.
- e) A través de conciertos con otros establecimientos abiertos al público, Entidades o Instituciones que ofrezcan garantía suficiente de la correcta prestación del servicio.

Preferentemente se procederá a la gestión por las modalidades a) o, en su defecto, b). Sólo cuando por falta de ofertas o de idoneidad de la Empresa esto no sea posible, se acudirá a la gestión directa y, excepcionalmente, a la concertación del servicio con otros establecimientos públicos o Entidades.

En los casos de gestión directa del servicio de comedor por los centros, el órgano competente procederá a la contratación del personal de cocina y de servicio. La proporción de personal de cocina y servicio necesario se fijará con arreglo a los siguientes módulos: un/a cocinero/a y un/a ayudante por cada 100 comensales o fracción superior a 40, que se incrementará con otro/a ayudantes en los casos de comedores para alumnos de educación infantil o especial.

Resolución de 29 de agosto de 1996, de la dirección General de Promoción Educativa, por la que se dictan **instrucciones para la gestión y funcionamiento de los comedores escolares y se autorizan las variaciones en el número de comensales de los comedores de diversos centros públicos para el curso escolar 1996/97** (BOE 11 de septiembre de 1996).

En los comedores de gestión directa, los alumnos comensales de las islas de Gran Canaria y Tenerife recibirán en concepto de ayuda por el servicio de comedor escolar la cantidad de 190 ptas./menú/día, según porcentaje que se corresponderá con las siguientes modalidades de rentas medias de los centros. Los alumnos comensales del resto de las islas recibirán la cantidad de 195 ptas./menú/día. Los alumnos comensales de los Centros Específicos de Educación Especial, recibirán la cantidad de 270 ptas./menú/día.

En la tabla 2 se refleja el porcentaje de ayuda en función de la renta y la modalidad a la que se acojan.

Tabla 2. Porcentaje de ayuda en función de la renta.

Modalidad	Renta	% de ayuda
(A)	Muy Baja	75%
(B)	Baja	50%
(C)	Media Baja	40%
(D)	Media	30%

En cuanto a los comedores de gestión contratada, las cantidades de ayuda menú/día serán las mismas que para la gestión directa pero añadiendo una cantidad fija si el personal de vigilancia pertenece a la Consejería y si corre a cargo de las empresas contratantes (60 ptas./alumno/día). La tabla 3 esquematiza la ayuda en función de los comensales del centro.

Tabla 3. Ayuda fija según los comensales.

	Ayuda fija
De 0 a 50 comensales	80 ptas
De 51 a 149 comensales	100 ptas
De 150 a 249 comensales	120 ptas
De 250 en adelante	160 ptas

A 30 de junio de cada curso escolar, los centros remitirán a la Dirección General de Promoción Educativa la justificación de los gastos, y el balance económico del funcionamiento del comedor durante el curso escolar, en certificación del Consejo Escolar, junto a una certificación del centro donde conste que los beneficiarios de las ayudas seleccionados por el Consejo Escolar han presentado solicitudes al mismo y se encuentran debidamente registradas en el centro.

II.1.3.2. LEGISLACIÓN DE COMEDORES COLECTIVOS DE GESTIÓN DIRECTA

Según el **RD 2817/1983, de 13 de octubre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria de los Comedores Colectivos** (BOE del 11-11-83), se establecen unas condiciones de los locales e instalaciones, de los materiales y utillaje y del personal, así como unas manipulaciones permitidas y prohibidas que detallaremos a continuación.

Se definen los **comedores colectivos**, como aquellos establecimientos públicos o privados, con finalidad mercantil o social, cuya actividad sea la de facilitar comidas que en los mismos se consumen, incluyendo tanto los comedores dotados de cocina propia como los que carecen de la misma, tengan o no instalaciones al aire libre.

Todos **los locales** destinados a comedores y a la manipulación de alimentos a consumir en aquellos estarán convenientemente diferenciados y debidamente aislados de otros ajenos a sus cometidos específicos.

Dispondrán de instalaciones frigoríficas para aquellos productos que requieren conservación por el frío, con capacidad siempre acorde con su volumen de consumo.

En la construcción, acondicionamiento o reparación de los locales se emplearán materiales idóneos y en ningún caso susceptible de originar intoxicaciones o contaminaciones. Las paredes internas, suelos, ventanas, techos, el trabajo de carpintería y todas las demás partes de los locales destinados al servicio de las comidas deberán estar contruidos de tal forma y mantenidos en orden, reparación y condiciones tales que puedan limpiarse eficazmente y sin deterioro.

Los locales de servicio de comidas, así como los de elaboración o manipulación, conservación y almacenamiento, en todo caso, deberán ser adecuados para el uso a que se destinan, situados a conveniente distancia de cualquier posible

causa de suciedad, contaminación o insalubridad y separados de viviendas o locales donde pernocte cualquier clase de personal. No podrán utilizarse para dormitorio ni comunicar directamente con un lugar de servicios higiénicos, vestuarios y aseos.

Los *locales destinados a cocinas* deberán ser apropiados para el uso que se destinan, con emplazamiento y orientación adecuados; serán de dimensiones suficientes, con accesos fáciles.

Los suelos estarán contruidos con materiales no absorbentes, resistentes y no atacables por ácidos o álcalis empleados en la limpieza. Serán fáciles de limpiar y tendrán una inclinación suficiente hacia los sumideros que permita la evacuación de agua y otros líquidos. Estarán provistos de desagües con los dispositivos adecuados que eviten olor y el acceso de roedores.

Los paramentos verticales tendrán superficies lisas, no absorbentes, de color claro y revestidos de material o pintura que permita ser lavado sin deterioro.

Las cubiertas o techos estarán contruidos de forma que no se acumule polvo ni vapores de condensación, serán de fácil limpieza y siempre estarán en condiciones tales que no puedan aportar contaminación a los productos. Las uniones de paramentos verticales y horizontales serán redondeadas.

La ventilación natural y/o forzada (artificial) será la apropiada a la capacidad del local. Se prestará especial atención a la ventilación de los lugares y maquinaria que emitan calor y humedad desagradables.

Las aberturas y ventanas o huecos practicables para ventilación de los locales deberán estar dotados de rejillas de malla adecuadas para evitar el paso de insectos.

La iluminación puede ser natural o artificial, en ambos casos de suficiente intensidad. El sistema de iluminación estará debidamente protegido de manera que en caso de rotura no contamine los alimentos, y su fijación al techo o paredes se hará de forma que sea fácil su limpieza y evite la acumulación de polvo.

Dispondrán de agua potable corriente, fría y caliente, en cantidad suficiente para cubrir sus necesidades.

Existirán dispositivos en los que los operarios se podrán lavar y secar las manos. Los lavabos colocados en esta zona estarán dotados de agua fría y caliente. Serán accionados a pedal u otro sistema no manual, y el secado de las manos se efectuará con toallas de un solo uso o secadores automáticos. Habrá jabón o detergente y cepillos de uñas.

Dispondrán de servicios higiénicos, aseos y vestuarios, cuya separación de las zonas de manipulación y elaboración será completa.

Las aguas residuales abocarán en una red de evacuación dotada de alcantarillas y tuberías de material apropiado que desembocará a un sistema de depuración industrial o a la red de alcantarillado público.

Existirá un lugar separado para el almacenamiento de los residuos, que dispondrá de recipientes higiénicos e instalaciones inalterables, de fácil limpieza y desinfección, con una tapa de cierre hermético y se evacuarán diariamente.

Contarán con medios e instalaciones adecuadas en su construcción y situación dentro de estos establecimientos para garantizar la conservación de sus productos en óptimas condiciones de temperaturas, higiene, limpieza y ausencia de contaminación por la proximidad o contacto con cualquier clase de residuos o aguas residuales, humos, suciedad y materias extrañas, así como la presencia de insectos, roedores y otros animales. Deben, igualmente, existir sistemas de protección necesarios que impidan la acción directa de la luz solar sobre los productos.

En cuanto a los *equipos y útiles de trabajo*, toda maquinaria y utillaje será construida o instalada de tal forma que se facilite su completa limpieza y desinfección. Será de material inocuo, que no pueda transmitir a los alimentos propiedades nocivas ni cambiar sus características organolépticas. Su superficie será impermeable, atóxica y resistente a la corrosión. Se vigilará su estado de

conservación, debiendo ser eliminados cuando pierdan las condiciones requeridas para su uso.

La superficie de las mesas, bandejas o cualquier otra clase de recipiente destinado a la manipulación de los alimentos estará construido de material liso, anticorrosivo y de fácil limpieza y desinfección.

Respecto a *la higiene de los locales y utillaje*, estos deberán mantenerse en estado de limpieza pero no levantar polvo ni producir alteraciones ni contaminaciones. Nunca deben ser barridos los suelos en seco y en ningún caso cuando se estén preparando alimentos. Las dependencias deberán someterse a procesos de desinfección, desinsectación y desratización con la periodicidad necesaria.

Después de cada jornada de trabajo, o antes si es necesario se procederá sistemáticamente a la limpieza y desinfección de todos los útiles empleados que hayan tenido contacto con los alimentos. Los útiles y maquinaria que no se empleen cotidianamente serán lavados y desinfectados antes de ser utilizados nuevamente.

Los utensilios que se empleen para la preparación de los alimentos, así como la vajilla, cubiertos, etc., se limpiarán y enjuagarán para después lavarlos con detergente autorizado y por último sumergirlos durante treinta segundos, como mínimo, en agua a una temperatura no inferior a 80°C. El aclarado se efectuará con abundante agua corriente para arrastrar totalmente el detergente utilizado.

Cuando se empleen máquinas de lavar vajilla y utillaje, éstas deberán ser fácilmente desmontables para su limpieza una vez usadas.

Los productos empleados en la limpieza, desinfección, desinsectación y desratización que se utilicen en las dependencias de los establecimientos deberán disponer de la autorización correspondiente otorgada por la Subsecretaría de Sanidad y Consumo. Su utilización y almacenaje se hará de tal forma que no suponga ningún riesgo de contaminación para los alimentos. Los insecticidas, raticidas y demás

sustancias peligrosas deben guardarse lejos de las áreas de almacenamiento y preparación de los alimentos, en recipientes cerrados y su manejo se permitirá solo al personal convenientemente responsable de su uso.

Queda prohibida la permanencia y entrada de animales domésticos en las dependencias de estos establecimientos.

Hablaremos ahora de *las condiciones del personal*. El dedicado a la preparación, elaboración y en general a la manipulación de los alimentos observará en todo momento la máxima pulcritud en su aseo personal y utilizará ropa de uso exclusivo de trabajo, prenda de cabeza, calzado adecuado a su función y en perfecto estado de limpieza. No podrá emplear la ropa de trabajo nada más que en el momento de ejercer sus funciones.

Todo el personal, antes de iniciarse al trabajo, se lavará las manos con jabón o detergente, repitiendo dicha operación cuando se considere necesario o aconsejable y en cualquier caso siempre antes de incorporarse al trabajo después de una ausencia.

El personal no podrá llevar expuesto vendaje alguno, salvo que esté perfectamente protegido por una envoltura impermeable y ésta no pueda desprenderse accidentalmente.

En la manipulación de los alimentos no podrán intervenir personas que padezcan enfermedades transmisibles o que puedan ser portadoras de las mismas.

Queda prohibido fumar, masticar goma o tabaco o cualquier práctica no higiénica en las dependencias de elaboración y en las de manipulación en su caso.

No se permitirá la entrada a las áreas de elaboración de alimentos a ninguna persona ajena a dichos servicios, que no vaya equipada con la indumentaria adecuada.

El personal encargado de servir las comidas será advertido de mantener altos grados de higiene personal, en particular de conservar sus manos y ropas de trabajo escrupulosamente limpias.

Aquellos comedores colectivos dotados de cocina propia que de elaborar comidas para consumo en el propio establecimiento elaboren y suministren comidas a otras colectividades, deberán registrarse como tales y cumplir lo estipulado en la reglamentación específica para este tipo de industrias. En el RD 2825/1981, de 27 de noviembre se refleja que una industria del sector alimentario es clandestina cuando no está incluida en el Registro Sanitario, adquiriendo un número que debe estar a la vista en todos los productos alimenticios elaborados por esta industria.

Todas *las materias primas* utilizadas deberán cumplir las condiciones higiénico-sanitarias de calidad y pureza estipuladas en las normas que regulan dicha materia, así como las condiciones de los medios empleados en su transporte.

Se corregirán los fallos o prácticas viciosas que puedan descubrirse o las negligencias de los proveedores, eliminando a los presuntamente clandestinos.

Se podrá comprobar la documentación oficial que garantice el origen de la materia prima.

Deberá existir un correcto almacenamiento y adecuado método de conservación, de acuerdo con el estado físico de las materias primas.

Se ha de procurar no superar su capacidad de almacenamiento para conseguir que todos los alimentos sean empleados dentro de su periodo normal de utilización, llevándose a cabo las rotaciones necesarias. No almacenar productos no alimenticios, y en especial sustancias peligrosas, detergentes, etc., junto a productos alimenticios.

Evitar el contacto entre los alimentos crudos y las comidas preparadas durante la preparación de las mismas o durante su conservación. Las materias primas no

podrán estar en contacto con el suelo en ninguno de los procesos de conservación o preparación culinaria.

Tanto las materias primas como las comidas preparadas, cuando sean expuestas, estarán aisladas y protegidas mediante armario o vitrina y mantenidas en adecuadas condiciones de conservación. La materia prima una vez retirada de las cámaras de conservación será utilizada de inmediato, comprobándose antes de su uso las condiciones higiénico-sanitarias de aptitud para consumo.

En cuanto a *la preparación de las comidas*, la cocción será lo suficientemente prolongada y se evitará la cocción de piezas de gran volumen.

Los aditivos empleados así como las especias, deberán ajustarse a las prescripciones en vigor sobre la materia.

Las comidas deberán prepararse con la menor anticipación posible al tiempo de consumo, salvo las que vayan a ser congeladas.

Las comidas para su consumo inmediato, una vez terminada su cocción, deberán mantenerse a temperaturas iguales o superiores a los 70°C en el corazón del producto. Estas comidas deben consumirse en el mismo día de su preparación y cocción.

Las comidas destinadas a ser conservadas antes de su consumo por un procedimiento de refrigeración, congelación o ultracongelación deben envasarse inmediatamente después de su cocción o preparación, de tal forma que sus dimensiones favorezcan la obtención, en el menor tiempo posible, de una temperatura, como mínimo en el centro del producto inferior o igual a 3° ó -18°C, respectivamente.

Desde el fin de la fase de enfriamiento las comidas refrigeradas deben almacenarse en cámaras frigoríficas que aseguren una temperatura de conservación

inferior o igual a 3°C en todos los puntos del producto. El periodo de conservación máximo de las mismas será igual o inferior a cinco días.

La conservación de las comidas congeladas o ultracongeladas debe hacerse en cámaras frigoríficas que aseguren el mantenimiento de -18°C como máximo en todos los puntos del producto.

La elaboración y manipulación de mayonesas, salsas, cremas y natas se efectuará con la mínima antelación y serán consumidas dentro de las veinticuatro horas, manteniéndose constantemente en refrigeración.

Las ensaladas elaboradas con vegetales crudos se sumergirán durante cinco minutos en solución de hipoclorito sódico 70 miligramos por litro (70ppm) en agua potable y después se lavarán con agua potable corriente. Siempre que sea posible se utilizará equipo mecánico para estos fines.

Nunca debe cortarse sobre la misma tabla, carne cruda y carne cocida.

En cuanto a *las responsabilidades*, los directores o gerentes de comedores colectivos y los de los centros, instituciones y empresas que dispongan de ellos asumen la responsabilidad del cumplimiento en todo momento de lo expuesto, debiendo adoptar las medidas oportunas para que los locales, los utensilios y el menaje se encuentren en las condiciones higiénico-sanitarias exigidas. Vigilarán con asiduidad el mantenimiento en condiciones del servicio, promoviendo la inmediata subsanación de las deficiencias e irregularidades que descubran.

La responsabilidad sobre productos contenidos en envases cerrados, íntegros y mantenidos en adecuadas condiciones de conservación, corresponde al fabricante o elaborador de los mismos. La responsabilidad sobre productos no envasados o contenidos en envases abiertos corresponde al tenedor de los productos. La responsabilidad por la inadecuada conservación de los productos, envasados o no, o el incumplimiento de las instrucciones de conservación del etiquetado, corresponde al tenedor de los productos.

Respecto a las *competencias e inspecciones* serán los servicios sanitarios de la Comunidad Autónoma en su área de Salud Pública quienes establecerán los correspondientes servicios para la autorización, vigilancia y cumplimiento de las condiciones exigidas para la instalación y funcionamiento de los establecimientos.

En todos los comedores colectivos existirá un libro de visitas para el control sanitario de los mismos.

El comienzo del funcionamiento de un comedor colectivo exigirá la previa conformidad de los servicios sanitarios correspondientes, que se otorgará si resulta favorable la visita de inspección hecha al establecimiento para comprobar si se cumplen o no las normas de la reglamentación. Esta visita de inspección se solicitará a los servicios sanitarios mediante escrito en el que se hará constar la denominación, actividad y ubicación del comedor colectivo. Si de la visita de inspección resulta que no se cumplen las normas reglamentarias, se comunica al interesado las deficiencias observadas, no otorgándose la autorización de funcionamiento hasta una nueva visita de inspección donde se compruebe que dichas deficiencias han sido subsanadas.

Las visitas periódicas se efectuarán como mínimo cada tres meses, reflejándose en el libro de visitas el resultado de la inspección con aquellas observaciones que crean convenientes para que el interesado las subsane lo antes posible.

La autorización sanitaria de funcionamiento podrá ser revocada en cualquier momento si se infringe gravemente la Reglamentación.

Todo el personal de los comedores colectivos tendrá conocimiento de las prescripciones descritas, debiendo existir un ejemplar de este reglamento a su disposición.

II.1.3.3. LEGISLACIÓN DE COMEDORES COLECTIVOS DE GESTIÓN CONTRATADA

Orden de 21 de febrero de 1977 sobre Normas higiénico-sanitarias para la instalación y funcionamiento de industrias dedicadas a la preparación y distribución de comidas para consumo en colectividades y medios de transporte. (BOE, 10 de marzo de 1977). Corrección de errores en los BOE de 14 y 27 de mayo de 1977.

En esta Orden se define el término de cocina central como aquella industria, que a partir de locales preparados al efecto, preparan comidas, completas o parte de las mismas, para su posterior distribución a colectividades (escuelas, empresas, hospitales, etc.). Conservándose desde el momento de su elaboración hasta su consumo la temperatura, pudiendo dar lugar a dos sistemas de cocinas centrales:

- conservación en caliente
- conservación en frío (refrigeración y congelación)

En cuanto a las *condiciones higiénico-sanitarias* todos los locales destinados a la manipulación de materias primas, productos intermedios o finales, estarán debidamente aislados de cualquier otro ajeno a sus cometidos específicos, de forma que su distribución permita asegurar siempre una neta separación entre zona de recepción y almacenaje de materias primas, zonas de cocina y zonas de manipulación y envasado.

Los pavimentos de estos locales serán impermeables, antideslizantes, de fácil limpieza y desinfección, con la inclinación suficiente para evitar retenciones de agua u otros líquidos y estarán provistos de desagües con los dispositivos adecuados que eviten olores y penetración de roedores.

Los paramentos verticales tendrán superficies lisas, continuas e impermeables, de color claro. Los techos serán lisos, de material idóneo y lavable. Los huecos al exterior dispondrán de los dispositivos adecuados para evitar el acceso de insectos y roedores.

La ventilación natural o artificial será, en todo caso, apropiada a la capacidad y volumen del local, según la finalidad a que se destina.

Dispondrán de agua potable fría y caliente, debiendo existir un circuito diferenciado de ambas, con un caudal continuo suficiente para todas las necesidades de la industria.

También tendrán un sistema de depuración de residuales cuando el vertido de las mismas no se realice en una red de alcantarillado.

Los recipientes, máquinas y utensilios destinados a estar en contacto con los productos elaborados, con sus materias primas o con los productos intermedios, serán de materiales que no alteren las características de su contenido ni la de ellos mismos.

Dispondrán de vestuarios y servicios dotados de retretes, lavabos y duchas, con separación de sexos. Estarán aislados de las zonas de trabajo por doble sistema de puertas.

Existirán dependencias de recepción de materias primas con un almacén para productos alimenticios que no requieren frío. Así mismo, para aquellos que lo necesiten existirán cámaras frigoríficas en bandas de 0°C y -25°C, con termómetros de lectura exterior.

La zona de cocina estará completamente aislada e independiente del resto de los locales, disponiendo de sistemas de extracción de vapores y humos. La entrada a estos locales se efectuará por dobles puertas de vaivén.

En cuanto a las *salas de preparación y envasado de alimentos* no podrán tener una temperatura superior a 18°C.

Al lado de los puestos de trabajo se dispondrán recipientes higiénicos de fácil limpieza y desinfección, dotados de cierre hermético, para recogida de desperdicios.

El local de almacenamiento de productos terminados, en espera de transporte, estará dotado de instalaciones adecuadas a la conservación de los productos. Así en el caso de artículos congelados o ultracongelados, las instalaciones de frío mantendrán una temperatura inferior o igual a -18°C . Si los productos han de ser consumidos sin previo calentamiento, las instalaciones de frío asegurarán que, en el interior del producto la temperatura esté comprendida entre 4 y 8°C . Y cuando los productos almacenados en espera de transporte estén preparados para su consumo en caliente, deberán existir instalaciones para que la temperatura interior en el centro de los mismos sea igual o superior a 65°C .

Dispondrán de zonas de destrucción o desnaturalización de residuos o comidas no utilizadas, procedentes de contenedores utilizados o devueltos.

Próximos a los puestos de trabajo del personal manipulador, existirán lavamanos accionados a pedal u otro sistema no manual, en número de uno por cada ocho operarios, y uno a las entradas de las zonas de trabajo, dotados todos ellos de jabón, cepillo de uñas, secador de manos o toallas de un solo uso.

El sistema de agua caliente garantizará una temperatura de 82°C .

Las máquinas así como los instrumentos de corte y demás utensilios, mesas y estanterías, serán de material impermeable e inoxidable. No se permitirá la utilización de madera.

El lavado de vajilla, cubertería y demás utensilios debe realizarse por medio de lavadoras mecánicas que aseguren una perfecta limpieza y desinfección.

El personal técnico y operario que manipule alimentos, observará en todo momento la máxima higiene en su aseo personal, con ropa e indumentaria de color claro, calzado impermeable, cubrecabezas y/o redecilla en su caso, siendo todo ello de uso exclusivo para el trabajo. Además, el personal que intervenga en el proceso de envasado de alimentos, deberá llevar guantes y mascarilla.

Queda prohibido fumar, comer, masticar goma o cualquier otra práctica antihigiénica dentro de la cocina, sala de preparación y envasado de alimentos o dependencias donde se manipulen o almacenen alimentos o sus envases.

Toda persona que realice operaciones de manejo, preparación o envasado de alimentos deberá lavarse las manos con agua caliente y jabón tantas veces como lo requieran las condiciones de trabajo y siempre antes de incorporarse a su puesto después de una ausencia.

Los manipuladores que se diagnostiquen como portadores de gérmenes patógenos, serán separados del trabajo y no se reintegrarán al mismo hasta que se compruebe el estado satisfactorio de salud de los mismos.

Comentaremos *el envasado, acondicionamiento y transporte de las preparaciones culinarias*. El envasado se hará en raciones de forma que las distintas partes integrantes del menú conserven su independencia y estén protegidas del ambiente exterior.

Deberán ser acondicionadas en una de las siguientes formas:

1. Bandejas individuales completas, cuando se trate de comidas para consumo a temperatura ambiente.
2. Bandejas individuales incompletas (excepto las comidas calientes), para ser completadas en destino.
3. En lotes completos.
4. En lotes especiales.

Respecto a *las prácticas técnico-sanitarias* tendrán en cuenta que las materias primas reúnan las mejores condiciones y cualidades, garantizando en todo momento el origen de los productos con documentos que los avalen.

Serán sometidos a análisis periódicos bacteriológicos: la leche y productos lácteos, carnes y productos cárnicos, pescados y conservas de pescados, moluscos, cremas, salsas, mayonesas, huevos y ovoproductos.

Las materias primas congeladas a temperaturas inferiores a -18°C podrán ser utilizadas durante un período máximo de cuatro meses. Los alimentos congelados se descongelarán completamente antes de ser cocinados para asegurar la penetración del calor en el centro del alimento.

Durante el almacenamiento de las materias primas, ningún alimento estará en contacto con el suelo, debiendo estar aislado del mismo como mínimo 10 centímetros.

La planificación de comidas se realizará con la suficiente antelación que permita la correcta rotación de las materias primas almacenadas. Todas las comidas almacenadas se utilizarán asimismo conforme a una estricta rotación, para ello cada partida estará adecuadamente codificada con la fecha de elaboración. Las comidas deberán prepararse con la menor anticipación posible al tiempo de consumo, salvo las que vayan a ser congeladas.

Inmediatamente de cocinadas y colocadas en recipientes apropiados se depositarán en los armarios o cámaras frigoríficas de espera, donde permanecerán en bandas comprendidas entre 4°C y 8°C , debiendo consumirse en el plazo de veinticuatro horas después de su cocción y conservación, a las temperaturas expresadas.

Las comidas congeladas y conservadas a temperatura de -18°C podrán ser utilizadas durante un período máximo de cuatro meses. Para su consumo se calentarán de tal manera que la temperatura del alimento se eleve hasta los 65°C en su punto central, en menos de una hora, manteniéndose esta temperatura hasta el momento de su utilización.

Las ensaladas elaboradas con vegetales crudos se sumergirán durante cinco minutos, en solución de hipoclorito sódico 70 mg/litro (70ppm) en agua potable y después se lavarán con agua potable corriente.

Las operaciones de limpieza de la vajilla requerirán tres tiempos:

- 1) Lavado con agua fría y caliente que contenga detergente. La caliente tendrá una temperatura de 60°C como mínimo.
- 2) Aclarado con agua caliente a temperatura de 82°C como mínimo.
- 3) Tratamiento germicida. Este podrá ser calor u otros medios esterilizantes.

Se ejercerá *control e inspección sanitaria* sobre el personal, instalaciones, materias primas, productos elaborados, prácticas higiénicas y medios de transportes.

Resolución de la Dirección General de la Salud Pública y Sanidad Veterinaria por la que se desarrolla la Orden de 24 de octubre de 1978 que aprobó el Reglamento sobre Vigilancia, Control e Inspección Sanitaria de Comedores Colectivos. (BOE nº4, de 4 de enero de 1979). Corrección en el BOE nº69, de 20 de marzo de 1980.

La visita de inspección previa al funcionamiento se solicitará de la Delegación Territorial del Ministerio de Sanidad y Seguridad Social mediante un escrito en el que se hará constar la denominación, actividad y domicilio del comedor colectivo, así como el nombre o razón social de la persona o Entidad propietaria del mismo. Se acompañará a la solicitud un ejemplar del libro de visitas.

Los servicios competentes girarán la correspondiente visita al establecimiento al objeto de comprobar si se cumplen o no las normas. En caso afirmativo se diligenciará el libro de visitas y así el funcionamiento del establecimiento. En caso negativo se comunicarán las deficiencias observadas para que se pueda otorgar la autorización de funcionamiento ante una nueva visita donde se comprueben que aquellas han sido subsanadas.

El libro de visitas para el control sanitario de los comedores colectivos constará de hojas numeradas, con una estructura y contenido determinados.

Las visitas periódicas para comprobar el correcto funcionamiento tanto de las instalaciones como de los servicios, se efectuarán como mínimo cada tres meses, consignándose su resultado en el libro de visitas.

La Orden del Ministerio de Educación de 24 de Noviembre de 1992 (BOE de 8 de diciembre de 1992) dispone la regulación de los comedores escolares.

Los centros docentes públicos dependientes del Ministerio de Educación y Ciencia que impartan enseñanzas en los niveles obligatorios y/o de Educación Infantil podrán prestar el servicio de comedor escolar siempre que cuenten con las instalaciones y los medios necesarios para proporcionarlo.

Los Consejos Escolares de los Centros podrán solicitar del respectivo Director provincial de Educación y Ciencia la autorización del servicio de comedor escolar en su centro, basando su petición de creación del servicio en las necesidades de escolarización del alumno y/o socioeconómicas de sus familias.

II.2. HIGIENE ALIMENTARIA

II.2.1. INTRODUCCIÓN

En el *Real Decreto 2207/1995, de 28 de diciembre, por el que se establece las normas de higiene relativas a los productos alimenticios*, se define *higiene* al conjunto de las medidas necesarias para garantizar la seguridad y salubridad de los productos alimenticios.

La higiene es necesaria en la industria alimentaria para la obtención de alimentos sanos (no peligrosos para la salud), satisfactorios desde los puntos de vista alimentario (nutricional) y comercial (buena conservación, confianza del consumidor con respecto a la calidad general). Para obtener alimentos de calidad es preciso utilizar materias primas salubres y que respondan a un pliego de condiciones estricto, evitar las contaminaciones en el curso de la transformación (limitarlas, eliminarlas o destruirlas). Los medios para alcanzar este fin son los siguientes:

- *Medios preventivos*

- Información de los manipuladores para sensibilizarlos a los problemas de higiene.
- Medidas preventivas al nivel de la concepción y organización: adecuación de los locales, elección del material (facilidad de limpieza), calidad de los fluidos, lucha contra los vectores de contaminación (insectos, roedores), elección y formación del personal.
- Medidas preventivas a nivel del funcionamiento: limpieza, estandarización de las técnicas de fabricación, elección y preparación de las materias primas (eliminación «física» de los contaminantes), limitación de las contaminaciones, higiene del personal.

- *Medios destructivos*

Son todas las técnicas de estabilización o de destrucción de los microorganismos indeseables o de aquellos que pueden serlo (técnicas de conservación).

- *Controles microbiológicos a todos los niveles*

- Permiten conocer en todo momento la naturaleza de los riesgos que se corren. Se trata del control sanitario del personal, de la vigilancia de las cadenas de fabricación (carga microbiana del material y de las fases intermedias en la fabricación), del control microbiológico del producto acabado.
- Estudio profundo de las causas de los accidentes de fabricación o de los accidentes sanitarios, lo cual permite encontrar las soluciones para evitarlos.

Las medidas de prevención y control para evitar el crecimiento de microorganismos pueden aplicarse a tres niveles (Sinell, 1995):

- 1) en la producción primaria, en el animal;
- 2) en los procesos dirigidos a los alimentos como el almacenaje, transporte, manipulación y distribución;
- 3) en la educación a todos los niveles de la cadena alimentaria.

Uno de los aspectos que más preocupa a los responsables de la Sanidad en el mundo, es el mantenimiento de la higiene alimentaria en la manipulación de alimentos. La Organización Mundial de la Salud ha preparado las reglas de oro para la preparación de alimentos sanos.

1. Escoger alimentos cuyo tratamiento asegure la inocuidad.
2. Cocer bien los alimentos.
3. Consumir los alimentos inmediatamente después de su cocción.
4. Conservar adecuadamente los alimentos cocidos.
5. Recalentar bien los alimentos cocidos.
6. Evitar cualquier contacto entre los alimentos crudos y cocidos.
7. Lavarse las manos frecuentemente.
8. Vigilar que la limpieza de la cocina sea máxima.
9. Proteger los alimentos de insectos, roedores y otros animales.
10. Utilizar agua pura.

II.2.2. CADENA ALIMENTARIA

Se llama cadena alimentaria a las diferentes etapas por las que pasa un producto antes de llegar a la mesa del consumidor:

- Producción
- Recolección, sacrificio, transformación
- Conservación
- Envasado
- Distribución
- Transporte
- Almacenamiento
- Exposición y venta
- Preparación culinaria
- Consumo

Los nutricionistas han señalado la importancia que tiene para la salud de las poblaciones el control y la supervisión de las diferentes fases indicadas con el fin de mantener el máximo valor nutritivo del alimento, además de garantizar su higiene y con ello la seguridad alimentaria (López-Nomdedeu, 1998).

Los problemas que relacionan el consumo de alimentos y el riesgo para la salud pública se remontan a los orígenes del *homo sapiens*, estando siempre ligados a los riesgos derivados de la alteración y contaminación alimentaria, junto con una nutrición desequilibrada.

El Consejo de Seguridad Alimentaria, organización dependiente de la OMS, estableció en 1976 cuáles eran los peligros de enfermedad permanentes que se vehiculan a través de los alimentos y los clasificó atendiendo a tres tipos de criterios:

- La gravedad del peligro, que viene dada por el tipo de efecto ocasionado, y que varía desde leve con malestar transitorio hasta muy grave con efectos irreversibles, incluida la muerte.

- La incidencia referida al número de casos o porcentaje de los mismos para un efecto determinado.
- El período de incubación, que indica el tiempo que transcurre hasta la aparición del efecto tras la exposición al peligro, y que oscila entre inmediato y a largo plazo.

Se puede así establecer una clasificación de los riesgos alimentarios en cinco grupos de mayor a menor (Herrera, 1999):

- a) enfermedades de origen microbiano
- b) trastornos nutricionales
- c) intoxicaciones por contaminantes ambientales
- d) procesos tóxicos debido a las sustancias naturales presentes en los alimentos
- e) riesgos toxicológicos debido al uso indebido de aditivos y colorantes alimentarios no autorizados.

La contaminación alimentaria estudia aquellos factores que incidiendo sobre alimentos y bebidas, provocan alteraciones o situaciones de peligro en el hombre tras el consumo de estos últimos.

Dependiendo del factor causante de la contaminación se distinguen clásicamente dos tipos de contaminación: la *contaminación biótica*, provocada por la presencia inoportuna de microorganismos, parásitos, virus y/o productos tóxicos de origen biológico en los alimentos, y la *contaminación abiótica*, constituida por la presencia en los alimentos de productos químicos o residuos de los mismos, así como de contaminantes de naturaleza radioactiva.

Dentro de las fuentes de contaminación alimentaria tenemos al medio ambiente, a los propios seres vivos, a los productos derivados de éstos y la contaminación industrial.

El suelo se comporta como un agente contaminante importante, es fuente de contaminación química, tanto de origen natural (elementos metálicos) como de

origen agrícola (pesticidas, abonos químicos contaminados) o de origen industrial (PCBs).

El agua es fuente de contaminación de las cadenas alimentarias en diferentes puntos. En los vegetales, el agua de riego contaminada aporta no sólo microorganismos saprófitos sino también algunos patógenos como *Salmonella*, *E. coli* o *C. perfringens*. En los pescados puede contaminarlos en su superficie y en su aparato digestivo.

La contaminación del aire es directamente proporcional al número de fuentes contaminantes del mismo.

Los productos vegetales tienen una flora microbiana propia que porcentualmente representa poco frente a la flora adquirida a partir del agua, suelo, aire, abonos animales y humanos. Al igual que le ocurre a los animales.

El hombre, como agente activo de la cadena alimentaria, es fuente frecuente de contaminación alimentaria. En la piel del hombre coexiste la flora microbiana autóctona natural con una flora adquirida superficial. En la piel encontramos normalmente los géneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus* y *Pseudomonas* entre otros. El contenido intestinal se muestra como fuente importante de microorganismos patógenos contaminantes de alimentos. El intestino delgado alcanza en condiciones normales concentraciones de 10^8 microorganismos por gramo, que están representados por microorganismos anaerobios facultativos. El intestino grueso contiene concentraciones de hasta 10^{12} y 10^{15} microorganismos por gramo, de las que el 95% está constituida por *Bifidobacterium* y *Bacteroides* y un 5% restante por organismos coliformes, enterococos, estafilococos, clostridios, enterobacterias y lactobacilos (Hernández, 1999).

Las heces pueden contaminar nuestros alimentos a partir de puntos muy específicos de la cadena alimentaria, o bien, a partir de manipulaciones que no cumplan normas higiénicas aceptables. Los microorganismos implicados en problemas de contaminación a partir de heces son *Salmonella*, *C. perfringens*,

clostridios sulfito reductores, organismos coliformes, enterobacterias y estreptococos fecales.

Las manos del hombre son una causa frecuente de contaminación de los alimentos en cualquier punto de la cadena alimentaria.

En la tabla 4 se pueden observar los factores que facilitan el aporte y multiplicación de los microorganismos.

Tabla 4. Factores que facilitan el aporte y la multiplicación de los microorganismos.

Aporte	Multiplicación
Presencia de materia prima contaminada	Según la composición, el pH, la flora asociada, el embalaje o la humedad
Productos mal acondicionados	Mal funcionamiento de las cámaras
Estado de suciedad	Escarcha
Estanterías no adecuadas	Uniones mal ajustadas
Recipientes sucios o no tapados	Mantenimiento incorrecto
Presencia de madera	Duración del almacenamiento
Manipulación incorrecta	Apertura incorrecta de las puertas
Desorden	Introducción de alimentos calientes en cámaras
Sobrecarga	
Mal aseo personal	
Vestimenta sucia o inapropiada	

Fuente: CESNID, 1999.

En la cadena alimentaria hay que atender especialmente a los llamados “puntos críticos” (depósito de basuras, zona de preparado y limpieza de alimentos, etc.) donde la contaminación, supervivencia y multiplicación de los microorganismos patógenos es mayor.

Las medidas de control intentan impedir el crecimiento de microorganismos en los alimentos y comprometerse a llevar a cabo unas medidas de higiene en la producción, en la materia prima, en los locales, en el equipamiento, en la limpieza y

desinfección, en el personal etc. Impedir su crecimiento o la formación de sus toxinas a través del congelado, refrigerado u otros procesos como la disminución de la actividad de agua o pH, incremento de la temperatura entre otros (Sinell, 1995).

Hay que tener en cuenta que existen alimentos de alto riesgo, es decir aquellos que por sus condiciones de composición (ricos en agua y proteínas) son más sensibles al deterioro.

La preocupación por mantener una cadena alimentaria bien controlada está ligada al deseo de obtener una alimentación de la máxima calidad y seguridad. Las propiedades que caracterizan a un alimento de calidad son de diversos tipos:

- ⇒ Sanitarias
- ⇒ Organolépticas
- ⇒ Utilización
- ⇒ Nutricionales

II.2.3. ALTERACIÓN Y CONSERVACIÓN

La alteración de los alimentos y la intoxicación alimenticia puede esperarse cuando los microorganismos se multiplican hasta alcanzar números no razonables durante el transporte tras la recolección y durante el almacenamiento antes y después de ser procesados.

Según el Código Alimentario Español, un alimento alterado es “todo alimento que durante su obtención, preparación, manipulación, transporte, almacenamiento o tenencia, y por causas no provocadas deliberadamente, sufre variaciones en sus caracteres organolépticos, composición química o valor nutritivo de tal forma que su aptitud para el consumo queda anulada o sensiblemente disminuida, aunque se mantenga inocuo”.

Algunos de los factores que conducen a la alteración de los alimentos incluyen (Hobbs, 1993):

- (1) Almacenamiento a temperatura ambiente, que estimulará el crecimiento de bacterias y mohos.
- (2) Conservación de alimentos húmedos en recipientes de celofán o de plástico sin medidas para eliminar la humedad.
- (3) Almacenamiento de frutas y verduras húmedas tras ser lavadas, a temperatura ambiente.
- (4) Lavado de huevos no precisos para su consumo inmediato.
- (5) Conservación de carne, queso y otros alimentos en recipientes sintéticos herméticamente cerrados, particularmente si la carne no ha sido cocinada de forma adecuada.

Los alimentos pueden ser considerados como perecederos cuando sus componentes y su contenido de humedad estimulan el crecimiento de microorganismos que provocan alteración o intoxicación alimenticia y/o se ven sometidos a cambios oxidativos. La alteración se reconoce generalmente por cambios de olor, color, textura y sabor e incluso por una descomposición aparente.

La tecnología alimentaria incluye factores de seguridad en la producción de alimentos para mantener una buena calidad. La mayoría de los métodos se orientan a controlar el crecimiento de bacterias y mohos sobre y en el interior del alimento. Los métodos de conservación y de fermentación se han desarrollado tan rápidamente como ha permitido el conocimiento y la ingeniería del equipo (Hobbs, 1993).

II.2.3.1. CONTROL DE LA TEMPERATURA

El control de la temperatura ocupa el primer lugar en la lista de los métodos de conservación. La temperatura actúa sobre la velocidad de las reacciones químicas y bioquímicas. En los microorganismos, el efecto global de una variación de temperatura se traduce en una modificación de la tasa de crecimiento y del tiempo de generación. También ejerce una acción diferencial sobre las distintas rutas metabólicas y provoca cambios en el tamaño celular, secreción de toxinas, formación de pigmentos, polisacáridos, etc. (Bourgeois, 1994).

EMPLEO DE TEMPERATURA ELEVADA

1) *Esterilización*: las temperaturas y el tiempo pueden calcularse con exactitud para destruir no solamente las células vegetativas sino también los esporos, por ejemplo, en los procesos de enlatado y embotellado de alimentos no ácidos. Se aplican temperaturas superiores a 100°C. Los alimentos estabilizados por este sistema presentan una vida útil superior a seis meses (Vidal, 1999).

También están los tratamientos HTST (High temperature short time) donde se aplican al producto antes de ser envasado altas temperaturas por periodos cortos de tiempo. Tenemos así el tratamiento UHT con temperaturas del orden de 140-150°C durante segundos o la uperización, en la que el calor es aportado por vapor de agua sobrecalentado entre 120-150°C (Vidal, 1999).

2) *Pasteurización*: los tratamientos térmicos con tiempos y temperaturas inferiores destruirán la mayoría de las células vegetativas aunque no los esporos. La alteración es retrasada, aunque resulta preciso el almacenamiento en ambiente frío para retrasar el crecimiento. Se emplean temperaturas relativamente suaves, entre 65 y 70°C.

Tiempo de conservación inferior a los esterilizados, requiriendo unas condiciones de mantenimiento determinadas (refrigeración) (Vidal, 1999).

3) *Escaldado*: el calor puede ser aplicado a los alimentos por razones distintas a la destrucción de microorganismos. Constituye un tratamiento térmico rápido.

A una temperatura letal dada, el tiempo necesario para reducir el número de microorganismos viables en un orden de magnitud se denomina *valor de reducción decimal (valor D)*. La inactivación ocurre tanto más rápidamente cuanto más alta es la temperatura. La velocidad de muerte de las células vegetativas se multiplica aproximadamente por 10 al aumentar 5°C la temperatura en el rango letal, con los esporos esto ocurre cada 10°C (Eley, 1992).

Resulta variable la capacidad de los microorganismos para resistir el calor y el frío. Algunos, los termófilos, crecen con temperaturas superiores a las consideradas comúnmente como óptimas para el crecimiento (entre 45°C y 65°C, con un óptimo de 55°C) y pueden alterar alimentos enlatados almacenados en climas cálidos y en las bodegas de los barcos. Otros en el extremo opuesto, los psicrófilos, sobrevivirán y crecerán con las temperaturas medias del refrigerador. La congelación limita el crecimiento, aunque no mata los esporos ni incluso todas las células vegetativas (Hobbs, 1993).

Los organismos mesófilos crecen en temperaturas óptimas de 30 y 45°C y en un margen mínimo de 5 a 10°C y un óptimo de crecimiento a 37°C. Se les encuentra en alimentos almacenados a temperatura ambiente o en alimentos refrigerados cuando se ha roto la cadena del frío (Bourgeois, 1994).

En los tratamientos térmicos tiene una especial importancia el envase de los alimentos. El envasado clásico incluye botellas o frascos de cristal y latas soldadas herméticamente, aunque actualmente se utilizan ampliamente materiales plásticos (polietileno, polipropileno, poliestireno) y metálicos no rígidos.

EMPLEO DE BAJAS TEMPERATURAS

Los microorganismos que provocan alteración de los alimentos y que son capaces de multiplicarse en ambientes fríos son llamados psicrófilos; su temperatura óptima de crecimiento es 15°C o más baja y la máxima de 20°C o inferior. Los psicrótopos crecen a 0°C.

En los alimentos refrigerados mantenidos a temperaturas inferiores a 7°C solamente causarán alteración los psicrótopos, pudiendo formarse muchos millones en unos pocos días. Deberán evitarse las fluctuaciones de temperatura durante el almacenamiento ya que se incrementará la tasa de crecimiento según aumente la temperatura (Hobbs, 1993).

1) *Temperaturas de refrigeración*: se trata de temperaturas próximas aunque superiores al punto de congelación de los alimentos frescos, generalmente -10°C a +7°C. A estas temperaturas, sólo disminuye la velocidad de las reacciones de alteración, por lo que es un método de conservación para períodos cortos de tiempo (Vidal, 1999).

En una flora mixta de psicrótopos y mesófilos, las temperaturas bajas ejercen una acción selectiva y determinan un cambio en la flora. El enfriamiento rápido puede alterar a los microorganismos mesófilos. Las temperaturas bajas determinan también cambios morfológicos y fisiológicos, tales como aumento del tamaño celular, formación de filamentos, alteración del mesosoma y duplicación de la membrana celular. Al ser frenada la acción enzimática pueden cambiar las vías metabólicas y los productos finales. Puede producirse un incremento de los ácidos grasos insaturados.

La mayoría de los microorganismos patógenos son mesófilos e incapaces de crecer por debajo de 7°C. La enterotoxina estafilocócica ha sido detectada a 10°C, aunque su producción es lenta cuando no existe crecimiento con temperaturas inferiores a 4-5°C. *C. botulinum* tipo E y las estirpes no proteolíticas B y F crecen y producen toxina a 3.5-5°C. Los indicadores de polución fecal, *E. coli* y *E. faecalis* pueden crecer a 8-10°C (Hobbs, 1993).

2) *Congelación*: algunos microorganismos, tales como la mayoría de los esporos y algunas células vegetativas sobreviven a la congelación sin ser dañados, algunas

sobreviven aunque son alteradas y otras son inactivadas. Temperaturas de congelación altas (-10°C a -20°C) son más letales que las temperaturas más bajas (-15°C a -30°C), aunque el alimento puede ser perjudicado por cambio de su estructura (Hobbs, 1993).

Muchos enzimas y algunas toxinas se mantienen activas durante la congelación de forma que puede deteriorarse lentamente la calidad de los alimentos.

La congelación permite una conservación de los alimentos por periodos de tiempo prolongados, cuya extensión dependerá de la naturaleza y composición de los alimentos y de la temperatura de almacenamiento. Como norma general, siempre se recomienda que la congelación se realice lo más rápidamente posible, ya que así los cristales de hielo formados son muy pequeños y numerosos, reduciéndose el daño tisular (Vidal, 1999).

Las condiciones en que se realiza la descongelación y el margen tiempo/temperatura tras la descongelación son hechos importantes con respecto al crecimiento de los microorganismos que sobreviven. La flora microbiana que persiste tras la descongelación dependerá del número y tipo de microorganismos presentes en el alimento antes de su congelación, aunque algunos serán destruidos. Los microorganismos pueden crecer sobre la superficie de bloques de alimento congelado, aunque el centro permanezca congelado; 10°C es la temperatura más conveniente para la descongelación (Hobbs, 1993).

E. coli presenta una supervivencia mayor si la descongelación se lleva a cabo durante 1 hora a 18°C que si se realiza en más tiempo, pero a temperatura más baja (18 horas a 4°C) (Bourgeois, 1994).

II.2.3.2. DESHIDRATACIÓN

La deshidratación hasta polvo reduce el contenido de humedad hasta niveles inferiores de los que precisan los microorganismos para crecer. Los alimentos deshidratados, aunque no son estériles, pueden ser almacenados de forma indefinida debido a su bajo contenido de agua. La situación bacteriana de un producto depende del grado de contaminación antes de ser deshidratado. La adición de agua estimulará

el crecimiento si el alimento es adecuado. El crecimiento y el metabolismo de los microorganismos requieren la presencia de agua disponible. La disponibilidad de agua o actividad de agua (a_w) en un alimento o en una solución es el cociente entre la presión de vapor del agua del alimento y la del agua pura a la misma temperatura. Se trata de un valor característico para cada alimento y oscila entre 0 y 1 (Vidal, 1999).

Un margen para a_w de 0.995-0.980 es el mejor para la mayoría de las bacterias y estimula la alteración de carnes, frutas y verduras. Cuando a_w es de 0.98-0.93 la alteración por bacterias Gram negativas deja paso a la alteración por determinados microorganismos Gram positivos; por debajo de 0.93-0.85 pueden crecer micrococcos, levaduras y mohos. Entre 0.85-0.60 predomina la alteración por ciertos hongos y levaduras y por debajo de 0.60 no existe crecimiento (Hobbs, 1993).

La función de los llamados conservantes, tales como sal y azúcar, consiste en reducir el valor de la actividad de agua; el calor también puede eliminar agua. La mayoría de las carnes curadas y enlatadas tienen un valor de a_w próximo a 0.93. La reducción de a_w es importante, en combinación con la sal y el nitrito, para evitar la germinación de esporos.

La deshidratación, o eliminación de agua, puede realizarse usando la energía solar, o mediante túnel y cinta, lecho fluido, cacerola, alfombra de espuma, tambor o cilindro, pulverización, liofilización y también mediante concentración. La concentración consiste en la reducción del contenido de agua en alimentos líquidos sin alcanzar la situación de sequedad. Los microorganismos son más resistentes a la destrucción por el calor en alimentos secos que en alimentos húmedos. La acción de los conservantes mejora cuando se retrasa el crecimiento microbiano al reducir a_w (Hobbs, 1993).

II.2.3.3. ACIDEZ

La acidez puede ser el factor primario para la conservación de alimentos fermentados o puede formar parte de un proceso combinado junto con reducción de a_w , calor o conservantes químicos.

Los ácidos orgánicos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza en frutas, tejidos animales, hojas y especias. También aparecen como productos finales de la fermentación. Los ácidos orgánicos de cadena corta tales como los ácidos acético, benzoico, cítrico, propiónico y sórbico son usados más comúnmente como conservantes por razones de solubilidad, sabor y baja toxicidad.

El ácido acético (vinagre) y sus sales se emplean ampliamente como acidulantes y conservantes. La presencia de ácido no disociado (1-2%) en carnes, pescados y verduras inhibirá generalmente o matará a muchos microorganismos. Este nivel puede reducirse en productos refrigerados o en aquellos que presentan un elevado contenido de sal o de azúcar (Hobbs, 1993).

El ácido benzoico puede ser usado para bebidas no alcohólicas, zumos y pulpas de frutas, productos saborizantes y colorantes líquidos, extractos líquidos de café y té y cuajo líquido. Es un agente antimicótico, al 0.05-0.1% del ácido no disociado.

El ácido propiónico puede ser usado en el pan. Inhibidor eficaz de los mohos, en concentraciones de 0.05-0.1% del ácido no disociado.

El ácido sórbico es útil contra el crecimiento de mohos en harina, pastelería, queso, mazapán, ciruelas y soluciones para coloración de alimentos. Posee un amplio espectro de actividad contra algunos microbios incluyendo levaduras, mohos y bacterias. Es un inhibidor útil de la contaminación aerobia en alimentos fermentados y ácidos dependiendo de varios factores y de un pH hasta 6.0 aproximadamente.

Los ácidos cítrico y láctico gozan de una moderada actividad antimicrobiana e inhiben el crecimiento microbiano solamente cuando son bajos los valores del pH. Se asegura que una concentración del 0.001% de ácido cítrico no disociado inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en condiciones anaerobias (Hobbs, 1993).

II.2.3.4. EMPLEO DE COMPUESTOS QUÍMICOS

En los *curados* la mezcla sal/nitrito es muy conocida. Un posible riesgo carcinogénico derivado de la presencia de nitrito en los alimentos ha determinado la reducción en la concentración del nitrito añadido a las sales para curación. El nitrito sódico (50-200 ppm) puede usarse en determinados tipos de carnes curadas y en una concentración menor (5ppm) en algunos tipos de queso (Hobbs, 1993).

En el salazón se produce una disminución de la actividad de agua del alimento y una elevación de la presión osmótica, oponiéndose ambos efectos al desarrollo de los microorganismos. Con la adición de azúcar ocurre lo mismo.

Los aditivos conocidos como adyuvantes se usan en muchos productos a partir de carne curada. Entre los mismos se incluyen ascorbatos como colorantes y fosfatos, glucono- δ lactona y azúcar para pH, textura y sabor. Todas estas sustancias alterarán la susceptibilidad del crecimiento bacteriano.

Carne y pescados no curados sufren alteraciones con formación de malos olores debidos al crecimiento de *Pseudomonas* y de otras especies psicrotolerantes Gram negativas.

En el *ahumado*, el humo contiene una amplia variedad de compuestos orgánicos, fracciones alquitranadas y formaldehído, también antióxidos y óxidos de nitrógeno. El humo se obtiene de la combustión de maderas poco resinosas, aunque actualmente se sustituye este tratamiento por el empleo de aromas de humo. El humo natural puede ser absorbido directamente a través de las superficies. El humo caliente tiene una temperatura de 60-80°C y el humo frío de 25-30°C. El ahumado es eficaz generalmente contra bacilos Gram negativos, micrococos y estafilococos (Hobbs, 1993).

II.2.3.5. GASES

El sistema de envasado o almacenamiento en atmósferas protectoras consiste en sustituir la atmósfera que rodea al producto por otra diferente, generalmente preparada para cada tipo de alimento.

Los gases como el dióxido de carbono, óxido de etileno, óxido de propileno, dióxido de azufre y ozono, son usados para matar o inhibir bacterias Gram negativas, mohos y levaduras.

El dióxido de carbono (CO₂) a elevadas concentraciones y bajas temperaturas es útil contra una amplia gama de microorganismos Gram negativos que alteran los alimentos. Para el almacenamiento en atmósfera de gas la mejor concentración es sobre el 20%. El CO₂ sólido se utiliza como un refrigerante para el almacenamiento y transporte de huevos, carne de mamíferos y aves sin congelar, y de alimentos congelados tales como helados. El gas procedente del hielo seco ayuda a prevenir el crecimiento de microorganismos psicrófilos que provocan alteración (Hobbs, 1993).

La carbonatación de bebidas a partir de soda y de frutas y de aguas minerales hasta niveles de 3-5 atmósferas de CO₂, mata o inhibe el crecimiento de bacterias patógenas y que provocan la alteración de los alimentos. Cuanto mayor sea la presión de CO₂ y menor el contenido de azúcar más rápida será la tasa de muerte.

El dióxido de azufre (SO₂) se aplica a los alimentos y bebidas en forma de gas licuado o de sales, sulfito, bisulfito o metasulfito. Es usado ampliamente para el control de microorganismos de la alteración, principalmente mohos y levaduras. El SO₂ es utilizado también en muchos alimentos como antioxidante o agente reductor para inhibir la acción enzimática y no enzimática u oscurecimiento.

El dióxido de azufre y las sales producen un equilibrio dependiente del pH en solución. Según desciende el pH, disminuyen los iones sulfito y aumenta la proporción de SO₂ a expensas de los iones bisulfito. Se incrementa la tasa de muerte

microbiana con el descenso del pH, con un efecto máximo con pH inferior a 4.0 (Hobbs, 1993).

El óxido de propileno y el óxido de etileno son similares, aunque del primero se necesita una concentración casi el doble. Las bacterias incluyendo estreptococos y estafilococos son más resistentes que las levaduras y los mohos, y los esporos bacterianos más resistentes que las células vegetativas.

La acción antimicrobiana del ozono tiene lugar principalmente en la superficie de los alimentos. Poderoso agente oxidante que provoca sabores a rancio en las grasas, reduce el pH, coagula la proteína e inactiva los enzimas. Es producido por lámparas ultravioleta (UV) y es responsable parcialmente de la muerte microbiana que provoca la luz UV en almacenes refrigerados. Las bacterias son más susceptibles que las levaduras y los mohos, aunque los esporos bacterianos son resistentes. Los cocos Gram positivos son más sensibles que las bacterias Gram negativas y menos que los bacilos Gram positivos. El umbral y la tasa de muerte depende de la cantidad de materia orgánica. En agua limpia resulta bactericida con menos de 10 ppm, aunque son precisas concentraciones muy superiores (más de 100 ppm) para reducir los microorganismos de la alteración en la superficie de los alimentos.

II.2.3.6. OXÍGENO

Los microorganismos se clasifican en función de sus exigencias en oxígeno y/o en la toxicidad del mismo. Se distinguen los siguientes:

- ★ Aerobios estrictos (*Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*) que necesitan oxígeno como aceptor final de electrones, no tienen posibilidad de utilizar una vía fermentativa y disponen de catalasa para eliminar el peróxido de hidrógeno.
- ★ Aerobios facultativos (Enterobacterias, *Staphylococcus*) que pueden desarrollarse en presencia o ausencia de O₂. Poseen cadena respiratoria, los enzimas necesarios para la fermentación y son catalasa positivos.

- ★ Anaerobios estrictos (*Clostridium*, *Bacteroides*, etc) y los microaerófilos (*Enterococcus*, *Lactobacillus*, etc.) poseen obligatoriamente un metabolismo fermentativo. Son catalasa negativos e inactivados de forma variable por la presencia de O₂ en función de la presión parcial del mismo.

El oxígeno influye sobre el valor del potencial óxido-reducción de un medio, pero tiene también un efecto sobre el metabolismo. Es utilizado por algunos microorganismos como aceptor final de electrones por una parte y, por otra, es el responsable de la formación de peróxido de hidrógeno por la flavoproteínas de la cadena transportadora de electrones (Bourgeois, 1994).

II.2.3.7. IRRADIACIÓN

La *luz ultravioleta* tiene una penetración limitada, por lo que solamente es valiosa para capas delgadas de fluidos. Se usa en la purificación del agua destinada a la depuración de mariscos y para prevenir la alteración de la superficie de los alimentos por mohos.

La radiación UV es inadecuada para ciertos alimentos que contienen grasa ya que acelera la oxidación de los lípidos y el enranciamiento. También provoca manchas por decoloración sobre las hojas de los vegetales verdes.

La irradiación ionizante con *rayos gamma* tiene ventajas sobre otros métodos usados para destruir bacterias en los alimentos ya que tiene un alto contenido de energía, gran penetración y letalidad por su acción a escala celular. Los alimentos pueden ser irradiados en sus envases definitivos. La penetración es instantánea, uniforme y profunda. A bajos niveles no provoca cambios organolépticos en los alimentos e incluso con niveles altos son escasos los cambios químicos (Hobbs, 1993).

Entre sus escasas desventajas se incluye la persistencia de la actividad enzimática en los alimentos irradiados durante su almacenamiento. Pueden

producirse algunos cambios químicos, tales como enranciamiento de alimentos sensibles.

Existen tres niveles de irradiación ionizante según el tipo del alimento y los diversos microorganismos que provocan su alteración:

- 1) La radurización se usa para alimentos de baja acidez alterados por bacterias y para alimentos ácidos o secos alterados por hongos. La naturaleza del envase y la temperatura de almacenamiento influyen en la dosis precisa de 1-5 KGy (kilo Gray).
- 2) La radicación es la irradiación con dosis bajas de rayos gamma, aunque superiores a las de la radurización. Se recomienda para la destrucción de salmonelas en alimentos como carne de pollo o de mamíferos sin cocinar, con una dosis de 2.5 KGy.
- 3) La radapertización es el tratamiento con dosis altas para destruir o inactivar esporos resistentes. Los esporos de *C. botulinum* son los más resistentes a la radiación por lo que deben usarse dosis de esterilización de rayos gamma, unos 45 KGy con un control estricto del proceso, o dosis más bajas del orden de 20 KGy combinadas con acidificantes o sales para curación.

II.2.3.8. pH

Productos con un pH bajo se mantienen microbiológicamente estables y seguros con tratamientos térmicos menores que los necesarios si el pH fuera más elevado, pues muchas bacterias y esporos son más sensibles al calor en condiciones ácidas, incluso algunos son incapaces de crecer si el pH baja lo suficiente, *C. botulinum* no crece por debajo de pH 4.5 excepto en condiciones especiales (ICMSF, 1988; Eley R, 1992).

Las bacterias pueden desarrollarse a pHs entre 4.5 y 9 con un óptimo de crecimiento entre 6.5 y 7.5. Las bacterias acéticas y lácticas soportan pHs inferiores a 3.5. La mayoría de los hongos son ácido resistentes, su óptimo se sitúa entre 4 y 6,

con valores extremos de 2 a 9 para las levaduras y de 2 a 11 para los mohos (Bourgeois, 1994).

Los rangos de pH y los pH óptimos de crecimiento de algunos microorganismos figuran en la tabla 5 (Bourgeois, 1994).

Tabla 5. Rangos de pH de diferentes microorganismos.

	Mínimo	Óptimo	Máximo
<i>Enterobacterias</i>	5,6	6,5 - 7,5	9,0
<i>Salmonella tiphy</i>	4,0 - 4,5	6,5 - 7,2	8,0 - 9,6
<i>Escherichia coli</i>	4,3	6,0 - 8,0	9,0
<i>Staphylococcus</i>	4,2	6,8 - 7,5	9,3
<i>Clostridium</i>	4,6 - 5,0	-	9,0
<i>C. botulinum</i>	4,8	-	8,2
<i>C. perfringens</i>	5,5	6,0 - 7,6	8,5
<i>Bacillus</i>	5,0 - 6,0	6,8 - 7,5	9,4 - 10

El pH desempeña un papel importante en el mantenimiento de la sanidad de los alimentos, y se utilizan muchos ácidos para conseguir que los productos alimenticios sean más estables e inocuos (ICMSF, 1980).

La acción del pH sobre el crecimiento de los microorganismos se puede situar a tres niveles: el medio, la permeabilidad de la membrana y la actividad metabólica (Bourgeois, 1994).

La disponibilidad de ciertos nutrientes en el medio de cultivo sufre modificaciones en función del equilibrio iónico. La permeabilidad de la membrana se ve igualmente afectada por las variaciones en la concentración de iones H⁺ y OH⁻. En medio ácido las permeasas catiónicas se saturan de iones hidrógeno, lo que limita o anula el transporte de cationes indispensables. En medio alcalino, son los iones hidroxilo los que saturan la membrana, impidiendo la transferencia de aniones (Bourgeois, 1994).

Toda variación del pH citoplásmico entraña una disminución de la actividad enzimática y, por tanto, del crecimiento del microorganismo.

El pH de los alimentos depende de la cantidad de sustancias ácidas y básicas que contengan, pero también de la capacidad tampón del producto, que generalmente está asociada a la concentración de proteínas.

En la carne, el pH del músculo se encuentra próximo a la neutralidad. La paralización de la circulación sanguínea y el consumo del oxígeno residual traen consigo una fermentación láctica del glucógeno por enzimas endógenos. Enseguida se produce una bajada de pH, variable según las especies, los músculos y las cantidades de glucógeno presentes (Bourgeois, 1994).

El pH del pescado es, en general, más elevado que el de la carne. Esta diferencia se debe, en parte, al agotamiento de las reservas de glucógeno durante la captura. El pH del pescado tiende a aumentar durante su almacenamiento, debido a la liberación de NH_3 y de diversas aminas. Este fenómeno se encuentra ligado a la naturaleza de la carne del pescado y a los microorganismos de la putrefacción, que se desarrollan con más facilidad cuando el pH es elevado (Bourgeois, 1994).

En los huevos, el pH de la clara es alcalino (7.6) y puede alcanzar hasta 9.0 cuando los huevos se almacenan al aire, debido a las pérdidas de CO_2 . Estos pHs limitan de forma importante el crecimiento de los microorganismos. La yema tiene un pH más bajo, de 6.0 a 6.3 (Bourgeois, 1994).

Las frutas tienen un pH muy bajo en comparación con otros alimentos. Por este hecho, se alteran fundamentalmente por mohos.

En definitiva, el requisito fundamental de cualquier alimento es su inocuidad o seguridad. En el momento de su consumo, el alimento debe estar libre de cualquier contaminante químico o microbiano, al menos hasta límites realmente aceptables y además, deberá mantener los caracteres sensoriales y el valor nutritivo deseables y esperados.

Al resumir, podemos observar como hay procedimientos que inactivan microorganismos (esterilización, irradiación), mientras que otros sólo inhiben su crecimiento (refrigeración, congelación, acidificación). En la tabla 6 se pueden observar los efectos de los distintos tratamientos durante el procesado de los alimentos y a cuáles se les aplica esas operaciones.

Tabla 6. Efectos de la manipulación y procesado sobre los microorganismos.

Operación	Alimento	Efectos propuestos
Acidificación	Productos lácteos y vegetales fermentados	Inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias (el efecto depende del tipo de ácido y del pH)
Almíbar	Frutas, jamón, jaleas	Detiene el crecimiento cuando $a_w < 0.70$
Congelación (< -10°C)	Todos los alimentos	Previene el crecimiento de todos los microorganismos
Deshidratación	Frutas, vegetales, carne, pescado	Detiene el crecimiento de todos los microorganismos cuando la $a_w < 0.60$
Enlatado (> 100°C)	Alimentos enlatados	Destruye todos los patógenos y los alterantes
Escaldado (95-110°C)	Vegetales, gambas	Destruye las formas vegetativas bacterianas, los mohos y las levaduras
Inmersión en una solución antimicrobiana	La mayoría de las frutas y verduras	Destruye determinados microorganismos
Irradiación	Varios	Inactiva las células vegetativas bacterianas o los esporos dependiendo de la dosis
Lavado	Todos los alimentos crudos	Reduce el número de microorganismos
Pasteurización (60-80°C)	Leche, vino, etc.	Destruye la mayoría de las bacterias no esporuladas, las levaduras y los mohos.
Refrigeración (< 10°C)	Todos los alimentos	Previene el crecimiento de la mayoría de las bacterias patógenas; disminuye el de los microorganismos alterantes.
Salado	Vegetales, carne, pescado	Detiene el crecimiento de muchos microorganismos aproximadamente cuando la concentración de sal es un 10%.

Fuente: ICMSF, 1988.

II.2.4. MODELOS DE PREDICCIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO

La transformación de los tejidos vegetales y animales en alimentos debe impedir que los contaminantes naturalmente presentes alteren el producto o lo conviertan en peligroso por medio del crecimiento de microorganismos capaces de causar enfermedades bien directamente o por medio de toxinas producidas durante su multiplicación (Eley R, 1992).

Dadas las limitaciones de la tecnología disponible, parece poco verosímil la posibilidad de poder asegurar la ausencia completa de contaminación de microorganismos particulares en las materias primas alimentarias antes de su procesado y, por tanto, se deben establecer medidas necesarias para inactivarlos, o al menos para asegurar que no pueden multiplicarse en sus productos (Eley R, 1992).

En la búsqueda por mejorar la calidad de los productos y hacerlos más deseables a los ojos del consumidor, los tecnólogos de alimentos tratan de reducir el tratamiento térmico y minimizar el empleo de conservantes, pero al mismo tiempo dilatando la vida útil de los alimentos y garantizando su seguridad microbiológica.

El concepto de microbiología predictiva surge de la necesidad de conocer las respuestas al crecimiento de los microorganismos de interés en los alimentos mediante modelos respecto a los principales parámetros de control (Eley R, 1992).

1. MODELOS PROBABILÍSTICOS

Este tipo de modelos que predicen la probabilidad de respuesta microbiana bajo unas condiciones dadas es útil en el caso de la producción de toxinas de *C. botulinum*. Existe un modelo que estima la probabilidad de producción de toxina como una función de la concentración de NaCl o nitrito sódico añadido, el tratamiento térmico, la presencia o ausencia de otros conservantes y aditivos como el isoascorbato, los polifosfatos o el nitrato y la temperatura de almacenamiento.

2. MODELOS CINÉTICOS

Para otros microorganismos patógenos y alterantes se ha propuesto un tipo de modelo diferente, que estima la fase Lag (etapa anterior a la fase de crecimiento exponencial) y el tiempo de generación.

La mayor utilidad de los modelos predictivos es que pueden usarse para conocer las consecuencias de un gran número de factores cambiantes al tiempo. Pueden indicar sólo una tendencia, pero sin embargo el conocimiento rápido de estas tendencias es crucial para establecer las condiciones de reformulación y para modificar o evaluar los parámetros de almacenamiento (Eley R, 1992).

II.2.4.1. CINÉTICA DEL CRECIMIENTO MICROBIANO.

El desarrollo microbiano se ve afectado principalmente por la composición general del medio, es decir, por la naturaleza de la fuente de energía y de carbono y por la presencia de agua, minerales, factores de crecimiento, antioxidantes, ácidos orgánicos o de sustancias con una actividad especial; la composición del medio está en relación directa con ciertos parámetros, tales como el pH, la actividad del agua o el potencial de oxidorreducción. Por otro lado, el crecimiento microbiano se ve igualmente afectado por otros parámetros que forman a menudo un determinado gas (CO₂, N₂), la temperatura, las radiaciones electromagnéticas, la humedad relativa o la presencia de ciertos inhibidores de origen exógeno. El medio afecta globalmente a los microorganismos presentes en un alimento y determina la identidad y el volumen de su flora (Bourgeois, 1994).

Situados en condiciones ideales los organismos unicelulares crecen y se dividen de forma continua: esta división es generalmente binaria, tras cada división celular las dos células hijas inician inmediatamente un nuevo ciclo de crecimiento que conduce a la división. En este entorno ideal todas las células se multiplican a la misma velocidad, probablemente a la velocidad más rápida posible (o máxima). Por consiguiente, una célula nueva invierte un cierto tiempo en terminar un ciclo de crecimiento y dar nacimiento a dos células hijas. La duración total de un ciclo de

división celular se denomina *tiempo de duplicación o tiempo de generación* (t_g) puesto que cada duplicación es equivalente a una nueva generación (Cuq, 1997).

Este modelo de crecimiento celular en el que el número de células crece en un factor constante a intervalo regular, se denomina **crecimiento exponencial** y se representa por medio de coordenadas semilogarítmicas que conducen a una evolución lineal.

Se puede predecir el tamaño de una población en un instante dado conociendo esta talla en otro instante y la tasa de crecimiento según la siguiente fórmula:

$$N = N_0 e^{\mu t}$$

N_0 : Población inicial de individuos

μ : tasa de crecimiento neperiano

$$\mu = r \ln 2 = 0,693r = 0,693/t_g$$

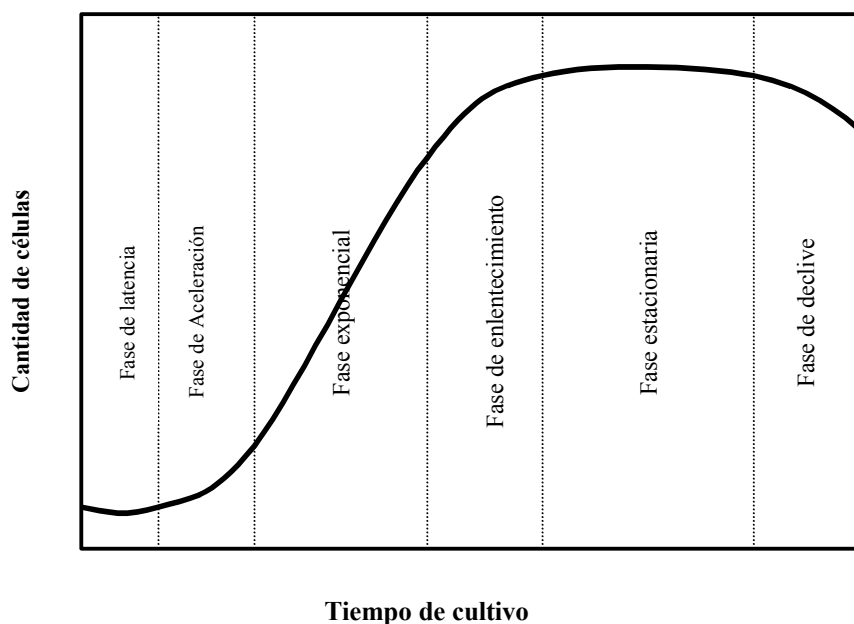
r : Número de duplicaciones por unidad de tiempo

t_g : tiempo de generación

Una de las características del crecimiento exponencial es que la velocidad de crecimiento es baja al principio pero experimenta una fuerte aceleración de modo que la velocidad se vuelve rápidamente vertiginosa. La implicación práctica es que un producto natural puede experimentar sin deterioro aparente las primeras fases de un crecimiento exponencial, pero rápidamente los efectos se vuelven nefastos (Cuq, 1997).

El crecimiento exponencial representa solamente una parte de un ciclo completo del crecimiento de una población microbiana. Una curva de crecimiento típico puede ser dividida en: fase de latencia, fase exponencial, fase estacionaria y fase de declive (figura 2).

Figura 2. Fases del crecimiento microbiano



1. FASE DE LATENCIA

Cuando una población bacteriana es situada en un medio favorable el crecimiento no se inicia inmediatamente, sino únicamente después de una fase de latencia que puede ser, según las condiciones, muy corta o, por el contrario, particularmente larga.

La fase de latencia es generalmente mínima cuando un microorganismo es transferido de un medio determinado a un medio idéntico. Lo que se produce con frecuencia en un laboratorio o en los procedimientos tecnológicos. Por el contrario, si el microorganismo proviene de un medio diferente o si se trata de un inóculo que proviene de un cultivo de tiempo, incluso en condiciones de medio idénticas, aparecerá una fase de latencia importante. Esta situación es la consecuencia de fenómenos diversos: reacción "tóxica" transitoria del medio, efecto de "dilución" y, sobre todo, adaptación enzimática a las nuevas condiciones, pues las células deben sintetizar el útil biológico indispensable para la asimilación y para la transformación de los constituyentes del nuevo medio (Cuq, 1997).

A continuación de esta fase de adaptación sobreviene una fase de aceleración en el curso de la cual la multiplicación celular se pone en marcha con una tasa media de crecimiento cada vez mayor.

La existencia de la fase de latencia explica que un contaminante que entra en contacto con un alimento no vaya a desarrollarse inmediatamente incluso si este alimento presenta condiciones en teoría favorables para el desarrollo.

En el curso de aplicaciones tecnológicas se buscan condiciones que limiten la duración de la fase de latencia. Numerosos tratamientos de estabilización destinados a impedir el desarrollo microbiano, por consiguiente, las alteraciones crean condiciones en las que la fase de latencia es máxima, incluso infinita (refrigeración, congelación, deshidratación, agentes estabilizantes: azúcares, sal...).

2. FASE EXPONENCIAL

En el curso de esta fase la tasa de crecimiento es máxima (tiempo de generación mínimo). Este crecimiento es de tipo "explosivo" y conduce a un aumento muy importante del número de microorganismos.

Para un organismo dado la velocidad de crecimiento varía con las condiciones del entorno y con la composición del medio. Un medio rico en el cual están presentes metabolitos directamente utilizables dará lugar a un crecimiento más rápido que un medio en el que las células deben efectuar síntesis complejas (Cuq, 1997).

3. FASE ESTACIONARIA

En un espacio cerrado una población no puede crecer infinitamente de forma exponencial. Aparece una limitación del crecimiento cuando se ha agotado un nutriente esencial o tras la acumulación de sustancias tóxicas. El período a partir del cual el crecimiento cesa es denominado *fase estacionaria*. La tasa de crecimiento es entonces nula. Se puede definir una fase de enlentecimiento entre la fase exponencial

y la fase estacionaria. Durante esta fase la tasa de crecimiento pasa de su valor máximo a cero (Cuq, 1997).

4. FASE DE DECLIVE

La fase de declive aparece después de que hayan alcanzado la fase estacionaria, las células siguen conservando cierta actividad metabólica, pero terminan muriendo. Durante esta fase se produce excreción en el medio del contenido celular, y en particular de las enzimas, toxinas, etc., aunque la lisis no sobreviene obligatoriamente. Actuando sobre la fase de crecimiento celular podemos conseguir dependiendo del microorganismo que queramos eliminar, de su estado fisiológico, del tiempo y de la dosis empleada para su destrucción llevar a cabo una serie de reacciones más o menos complejas y diversas que generalmente evolucionan hacia la muerte del microorganismo.

Cuando se aplica un tratamiento antimicrobiano a una población, la evolución del número de microorganismos revivificables en función del tiempo sigue una cinética de orden aparente igual a 1 y puede escribirse:

$$N = N_0 e^{-kt}$$

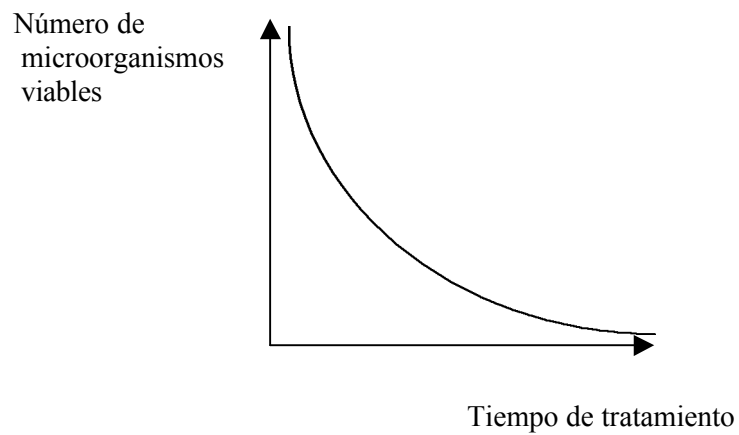
N= número de microorganismos vivos en el tiempo

t y k = constante de velocidad

Así, cuando se aplica un tratamiento antimicrobiano a un producto alimentario que contiene inicialmente N_0 microorganismos (carga), resulta que el número de microorganismos vivos decrece en función del tiempo y evoluciona hacia 0 cuando la duración de aplicación tiende al infinito (figura 3).

Además, es muy importante la carga inicial de microorganismos en un producto alimentario. Aún siendo iguales todas las condiciones (naturaleza del tratamiento, del microorganismo, del alimento), la eficacia del tratamiento será tanto mayor cuando más baja sea esta carga.

Figura 3. Evolución del número de gérmenes viables en el curso de un tratamiento de destrucción.



Por esto se debe procurar que la carga microbiana en el producto alimentario sea siempre lo más pequeña posible (buena calidad de las materias primas, eliminación de los microorganismos por lavado o centrifugación, higiene de las operaciones de transformación, etc.).

II.2.5. MICROORGANISMOS

II.2.5.1. AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES

Los recuentos de bacterias viables se basan comúnmente en el número de colonias que se desarrollan en placas de agar nutritivo que han sido previamente inoculadas con cantidades conocidas del alimento diluido e incubadas en condiciones ambientales predeterminadas. Los organismos mesófilos pueden crecer a temperaturas de 30-37°C.

El recuento de bacterias aerobias mesófilas es el más comúnmente utilizado para indicar la calidad sanitaria de los alimentos. La mayoría de los alimentos deben ser considerados como inadecuados cuando contienen un gran número de microorganismos, aún cuando no sean considerados como patógenos y no hayan alterado de forma apreciable los caracteres organolépticos del alimento, por las razones siguientes:

1. Recuentos altos en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario, mientras que en los productos perecederos pueden indicar también condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento. La presencia de un número elevado de bacterias aerobias mesófilas que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, significa que pueden haberse dado condiciones favorables a la multiplicación de los microorganismos patógenos de origen humano o animal (ICMSF, 1983).
2. La alteración de los alimentos es debida al desarrollo en ellos de microorganismos. El momento de la descomposición puede ser detectada por el olor, el gusto o el aspecto, la mayoría de los alimentos contienen más de 10^6 microorganismos por gramo (ICMSF, 1983).

Los recuentos elevados de bacterias mesófilas, por ejemplo en productos crudos o no tratados, a menudo están constituidos por la microflora normal o quizás indican una alteración incipiente del alimento y no un peligro potencial para la salud del consumidor.

Ventajas y limitaciones de los recuentos de mesófilos.

En el comercio internacional, el importador de alimentos carece a menudo de información sobre las condiciones del producto o del tiempo y temperatura relativos a la producción y transporte. Así un recuento en este parámetro resulta ser una referencia valiosa. Si es alto o si varía considerablemente en las muestras de partidas diferentes o dentro de una misma partida, ello quiere decir que con toda probabilidad el control microbiológico fue inadecuado durante la industrialización o tratamiento de los alimentos, la conservación o el transporte.

El fabricante de alimentos puede utilizar tales recuentos para evaluar en su fábrica la eficacia de esterilización a lo largo del proceso de la industrialización. Se tomarán muestras de los ingredientes del alimento compuesto a medida que estos son añadidos, del producto antes, durante y después de los períodos de retraso que pudieran permitir el crecimiento superficial o profundo de éstos (ICMSF, 1983).

Sin embargo, el recuento de la flora aerobia mesófila tiene un valor limitado en algunos casos:

1. En determinados tipos de alimentos (embutidos fermentados, col ácida, queso y otros derivados lácteos) es natural y deseable una gran multiplicación bacteriana con una fermentación o maduración paralela al alimento.
2. En los alimentos tratados por el calor, la población de microorganismos viables suele ser muy baja, aunque un examen microscópico de estos productos puede a veces poner de manifiesto la presencia de microorganismos muertos, cuyo número indica que la materia prima estaba muy contaminada.
3. Del mismo modo, en los alimentos deshidratados y en los congelados, siempre se obtienen recuentos de bacterias viables más bajos.

4. Los recuentos de bacterias mesófilas son de escaso valor a la hora de predecir la vida útil de un alimento conservado en refrigeración, ya que muchos microorganismos mesófilos no crecen a temperaturas por debajo de los 5°C.

II.2.5.2. ENTEROBACTERIACEAE

En la actualidad se han descrito por lo menos 27 géneros y 102 especies, así como 8 grupos entéricos. Estos géneros se han clasificado sobre la base de homología del ADN, propiedades bioquímicas, reacciones serológicas, susceptibilidad a bacteriófagos específicos de género y especie, y patrones de susceptibilidad a los antibióticos (Murray, 1997).

II.2.5.2.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

Los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son microorganismos de forma bacilar, Gram-negativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados, móviles o inmóviles, que fermentan la glucosa, reducen nitratos a nitritos, son citocromo-oxidasa negativos y crecen en medios que contienen sales biliares (Davis, 1996; Murray, 1997).

La fermentación de la glucosa se lleva a cabo generalmente por la vía ácida mixta, aunque a veces se realiza por la vía del butanodiol. Atacan también a un amplio conjunto de otros carbohidratos y las variaciones en el modelo metabólico han servido clásicamente para establecer una base importante en la identificación de las especies.

De los integrantes de esta familia, unos fermentan la lactosa y otros no como se observa en la tabla 7, se incluyen los géneros siguientes (Pascual Anderson, 1992).

La clasificación serológica de la familia *Enterobacteriaceae* se basa en tres tipos principales de antígenos: lipopolisacáridos O somáticos, antígenos K capsulares y proteínas H flagelares. Estos tres tipos de Ag de superficie (H, O y K o Vi) determinan la reactividad del microorganismo frente a los antisueros específicos (Davis, 1996; Murray, 1997).

Tabla 7. Géneros de la familia *Enterobacteriaceae*.

No fermentadores de la lactosa	Fermentadores de la lactosa
<i>Salmonella</i>	<i>Escherichia</i>
<i>Shigella</i>	<i>Enterobacter</i>
<i>Edwardsiella</i>	<i>Citrobacter</i>
<i>Hafnia</i>	<i>Serratia</i> (a veces)
<i>Proteus</i>	<i>Klebsiella</i>
<i>Providencia</i>	(excep. <i>Kb.</i>
<i>Yersinia</i>	<i>Rhinoscleromatis</i>)
<i>Morganella</i>	
<i>Erwinia</i>	
(fermenta excepcionalmente)	

El lipopolisacárido (LPS) termoestable es el principal antígeno de la pared celular y está formado por tres componentes: el polisacárido central común a todas las enterobacteriáceas (antígeno común) y el lípido A. La actividad endotoxina se asocia con el componente lípido A del LPS. Los antígenos O específicos existen en todos los géneros. Se detectan mediante aglutinación con antisueros específicos.

Los antígenos O son absolutamente termoestables, al contrario de los antígenos H que son proteínas termolábiles (Mandell, 1997).

Los antígenos K capsulares son proteínas o polisacáridos. Estos antígenos termolábiles pueden interferir con la detección de los O, lo que hace necesaria la eliminación del antígeno capsular mediante ebullición de la suspensión de microorganismos (Murray, 1997).

Además de flagelos, muchas especies producen fimbrias (pili), cápsulas o ambos, que son frecuentemente importantes determinantes de virulencia.

II.2.5.2.2. PATOGENIA

Las *Enterobacteriaceae* son indicadoras de contaminación fecal, y su uso como “índice” señala la calidad sanitaria de los alimentos procesados. Su presencia a niveles altos en estos productos indica elaboración poco higiénica, contaminación posterior a su fabricación o ambas cosas.

En productos no procesados o con tratamiento insuficiente para eliminar la mayoría de las formas vegetativas, es preferible el uso como indicadores de contaminación fecal de *coliformes fecales* o *E. coli* (Pascual, 1992).

La utilización del grupo completo de las *Enterobacteriaceae* como indicador fue sugerida para la evaluación de la calidad microbiológica de productos que hubiesen recibido un tratamiento térmico, para hacerlos inocuos y para el control del agua clorada. En estos productos, todos los miembros de las *Enterobacteriaceae* tienen un significado equivalente, ya que habiendo sido eliminados de los alimentos o del agua por los tratamientos citados, su presencia en número significativo indica una anomalía o fallo y, consiguientemente, un riesgo para el consumidor.

Dentro de los factores de virulencia de esta familia citaremos los más importantes:

a) ENDOTOXINA

La endotoxina es un factor de virulencia compartido por todas las bacterias gramnegativas aerobias y algunas anaerobias. La toxicidad reside en el componente lípido A del LPS, que es liberado cuando la célula muere y experimenta lisis (Davis, 1996; Murray, 1997).

b) CÁPSULA

Las enterobacteriáceas encapsuladas están protegidas frente a la fagocitosis, puesto que los antígenos capsulares hidrofílicos repelen la superficie hidrofóbica de las células fagocíticas. Estos antígenos ocultan también a los de la pared celular y, por tanto, interfieren con la unión de los anticuerpos a la bacteria. Además, los

antígenos capsulares tienen poca capacidad inmunogénica y de activación del complemento. Sin embargo, cuando se desarrollan anticuerpos anticapsulares específicos, disminuye el valor protector de la cápsula (Mandell, 1997; Murray, 1997).

c) EXOTOXINAS

Se han identificado varias toxinas importantes en las enterobacteriáceas, entre las que se incluyen las enterotoxinas termoestable y termolábil, las toxinas Shiga y similares a la Shiga y las hemolisinas.

Las enterotoxinas termolábiles, así como las toxinas Shiga y similares a la Shiga, son del tipo A-B, es decir, consisten en una subunidad A y una o varias subunidades B. La A es responsable de la actividad enzimática intracelular de la toxina, mientras que la B media la unión a la célula para facilitar la transferencia de la subunidad A a su interior (Murray, 1997).

La enterotoxina termolábil es prácticamente idéntica a la toxina del cólera. Producida de forma primaria por *E. coli* y algunos aislados de *Klebsiella* y *Salmonella*, esta toxina cataliza la APD ribosilación de la proteína reguladora de la adenilatociclasa G₅. Tal actividad conduce a niveles elevados de AMP cíclico, alteración del transporte de los electrolitos y diarrea secretora consiguiente (Mandell, 1997).

La toxina termoestable presente en *E. coli*, y a veces en *Yersinia enterocolitica* y *Citrobacter freundii*, es una proteína de peso molecular pequeño con numerosos enlaces disulfuro que le proporciona estabilidad frente al calor. Esta toxina estimula también una diarrea secretora al aumentar la activación cíclica de la guanilatociclasa. *Shigella dysenteriae* produce la toxina Shiga, que se ha mostrado neurotóxica, enterotóxica y citotóxica en modelos animales (Mandell, 1997).

En otras especies *Shigella* y en *E. coli* existen sustancias relacionadas que se conocen como toxinas similares a la Shiga o verotoxinas. Tales toxinas producen un

efecto citopático pronunciado en los cultivos tisulares, resultan letales para el ratón y provocan toxicidad gastrointestinal (Murray, 1997).

Muchas especies sintetizan también hemolisinas que pueden destruir las células y aumentan el comportamiento de hierro extracelular. Cuando el hierro es inyectado en asociación con *E. coli*, éste reduce sustancialmente la dosis de bacterias necesaria para alcanzar letalidad (Mandell, 1997).

d) FACTORES DE ADHERENCIA

La adherencia de las bacterias a las células huéspedes está mediada por las fimbrias. El antígeno factor de colonización de las fimbrias se encuentra en muchas cepas de *E. coli* causantes de gastroenteritis. Los factores de adherencia “fimbrias P”, capaces de aglutinar los hematíes humanos que tienen el antígeno de grupo sanguíneo P, se encuentran en cepas uropatógenas de *E. coli*. Por último, los factores “fimbrias S” son frecuentes en las cepas de *E. coli* responsables de sepsis neonatal y meningitis. La variación de fase de todos los antígenos de las fimbrias, protegen a las bacterias frente a su eliminación por mecanismo inmune (Murray, 1997).

II.2.5.2.3. EPIDEMIOLOGÍA

Los miembros de esta familia pueden encontrarse en muy diversos hospedadores, incluyendo vertebrados, invertebrados y plantas superiores.

Enterobacteriaceae, de importancia médica, crece principalmente en el tramo distal del tracto gastrointestinal del hombre y los animales, pero muchas de estas bacterias pueden sobrevivir también de forma natural en el agua.

Algunos géneros dentro de la familia son patógenos intestinales humanos importantes (p. ej., *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*) y varios son colonizadores normales del tracto gastrointestinal humano (p. ej., *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*). Debido a esto un número importante de las cepas miembros también se denominan “bacterias entéricas”.

Algunos miembros de la familia se asocian siempre con enfermedad cuando se aíslan en seres humanos, mientras que otros forman parte de la flora comensal normal y pueden causar infecciones oportunistas. Es posible que las infecciones procedan de un reservorio animal, de un portador humano o de la diseminación endógena del microorganismo en un sujeto susceptible, con afectación de prácticamente todos los órganos corporales.

Las enterobacterias son responsables del 30 al 35% de todas las septicemias, más del 70% de todas las infecciones del tracto urinario y muchas infecciones intestinales (Mandell, 1997; Murray, 1997).

II.2.5.2.4. DIAGNÓSTICO

Para el aislamiento de las bacterias entéricas y su identificación preliminar, se utilizan diversos medios especiales, diferenciales y selectivos. Habitualmente, dichos medios contienen inhibidores de los organismos grampositivos (colorantes bacteriostáticos, como el verde brillante, o compuestos surfactantes, como las sales biliares), un indicador acidobásico (como el rojo neutro) y uno o más hidratos de carbono fermentables.

Los medios selectivos que contienen tales sustancias (como el **agar MacConkey** o el **agar desoxicolato**) facilitan enormemente el aislamiento de los bacilos entéricos en los cultivos de heces. Los microorganismos que forman colonias de color rojo en agar MacConkey son fermentadores de la lactosa y se diferencian de los no fermentadores porque forman colonias incoloras (Davis, 1996).

Shigelas y salmonelas son menos sensibles que los organismos coliformes a la inhibición por el citrato (lo que puede depender de la captación de iones metálicos divalentes). El **agar SS** (*Salmonella-Shigella*), que contiene citrato y sales biliares, se utiliza para el cultivo selectivo de especies patógenas, aunque inhibe algunas cepas de *Shigellas* (Davis, 1996; Murray, 1997).

Aunque *Enterobacteriaceae* se ha separado en géneros y especies de acuerdo con sus propiedades patógenas, serológicas y genéticas, en el laboratorio clínico se siguen identificando todavía principalmente por una serie de pruebas bioquímicas. Los primeros esquemas taxonómicos diseñados se basaban fundamentalmente en la fermentación de la lactosa por *Escherichia* y *Klebsiella*, pero no por los miembros de los principales patógenos, *Salmonella* y *Shigella* (Davis, 1996; Murray, 1997).

Para algunas especies, la tipificación adicional se basa en la variación de la cepa de acuerdo con su sensibilidad a la lisis por bacteriófagos específicos o en la producción de colicinas específicas, bacteriocinas activas contra muchas enterobacterias.

II.2.5.2.5. CONDICIONES PARA QUE SE PRODUZCA UN BROTE

En los alimentos que han recibido un tratamiento para garantizar su sanidad, la presencia de niveles considerables de *Enterobacteriaceae* o de coliformes indica:

1. Tratamiento inadecuado y/o contaminación posterior al tratamiento, más frecuentemente a partir de materias primas, equipos sucios o manejo no higiénico.
2. Multiplicación microbiana que pudiera haber permitido el crecimiento de toda la serie de microorganismos patógenos y toxigénicos.

II.2.5.3. ESCHERICHIA COLI

II.2.5.3.1. CARACTERISTICAS GENERALES

Es un bacilo Gram-negativo que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, anaerobio facultativo y no esporulado, casi siempre móvil, fermentador de glucosa y lactosa con producción de gas, no productor de sulfhídrico y urea negativo (Frazier, 1993; Eley, 1992; Pascual A., 1992).

Crece en un rango de temperatura que va de 10 a 40°C, pero la temperatura óptima de crecimiento es de 37°C (Frazier, 1993).

Es un microorganismo relativamente termosensible y puede ser destruido con facilidad a temperaturas de pasteurización y mediante la apropiada cocción de los alimentos, así como durante su almacenamiento en frío, sobre todo a temperatura de congelación. Hay casos donde se da la supervivencia a los tratamientos de congelación. Por tanto, la confianza en la congelación para limpiar un alimento contaminado no es una costumbre fiable (Bell, 1998).

Su pH óptimo de crecimiento es de 7.0 a 7.5, con un pH mínimo de crecimiento de 4.0 y un pH máximo de 8.5 (Frazier, 1993).

Cuando en los alimentos se usan ácidos orgánicos como conservantes (acético, láctico, cítrico, propiónico, etc.), es importante asegurarse de que existe la concentración correcta de ácido no disociado para la inhibición del crecimiento bacteriano (Bell, 1998).

La mayoría de las cepas de *E. coli* poseen fimbrias proteicas (pili) que unen a las bacterias entre sí y con la superficie de diversas células animales.

Es uno de los géneros que integran el «grupo coliforme», posee estructura antigénica, dividiéndose en muchos biotipos y serotipos, basándose en el serotipaje

de los antígenos O, algunos de los cuales son patógenos potenciales para el hombre. Para saber con rigor si una cepa de *E. coli* es enteropatógena es necesario conocer el serotipo completo (es decir, los antígenos O, K y H) o, todavía mejor, determinar experimentalmente, por pruebas de laboratorio, si la cepa tiene factores de patogenicidad (Margall, 1997).

Pueden distinguirse cuatro clases de *E. coli* productores de enfermedad diarreica:

- 1) Cepas enterotoxigénicas (ECET)
- 2) Cepas enteropatógenas (ECEP)
- 3) Cepas enteroinvasivas (ECEI)
- 4) Cepas enterohemorrágicas (ECEH)

Cada clase manifiesta distintas características patógenas, clínicas y epidemiológicas.

El tubo digestivo de la mayoría de los animales de sangre caliente se coloniza regularmente por *E. coli* a las pocas horas o días del nacimiento, a partir del agua o del alimento ingerido, o directamente desde otros individuos. La mayoría de las cepas de *E. coli* pueden adherirse al moco que recubre la superficie del colon y del intestino delgado distal. Se ha estimado que el tiempo que tarda *E. coli* en duplicarse dentro del intestino es alrededor de 40 horas. Normalmente, esta especie es el anaerobio facultativo más común en el colon.

II.2.5.3.2. PATOGENIA

***E. coli* enterotoxigénico (ECET)**

Las cepas enterotoxigénicas son una causa importante de diarrea en lactantes y en viajeros a países menos desarrollados, ocasionando en algunas aldeas de estas zonas alrededor de tres episodios por niño en el primer año de vida. Esta infección es poco frecuente en los lactantes de países industrializados. La enfermedad varía desde un ligero malestar hasta una diarrea grave, semejante al cólera, en la que se pierden

varios litros de líquido al día, lo que provoca deshidratación intensa. Los ECET se adquieren por ingestión de agua y alimentos contaminados (Davis, 1996; Murray, 1997).

Suele ser necesario ingerir un gran número de organismos (10^8) para producir enfermedad en los individuos susceptibles. El proceso requiere la colonización intestinal, así como la elaboración de una o más enterotoxinas. Ambas características están codificadas por plásmidos.

Las adhesinas de las fimbrias hacen que las células ECET se adhieran a los receptores específicos de los enterocitos del intestino delgado proximal.

a) TOXINAS Y TOXINOGENESIS

E. coli enterotoxigénico produce dos tipos de enterotoxinas mediadas por plásmidos: una de peso molecular elevado y termolábil (toxina TL) y otra de peso molecular relativamente bajo y termoestable (toxina TE).

TL posee un peso molecular de 86.000 daltons, y tanto estructuralmente como antigénicamente recuerda la toxina colérica; incluso tiene un modo similar de acción incrementando la actividad adenilatociclasa (Davis, 1996).

Se han descrito dos tipos de TE: TE_a y TE_b, con pesos moleculares de 2.000 y 5.000 respectivamente. El mecanismo de acción de TE_b no se conoce bien. Y de la TE_a se sabe que su unión a un receptor conduce a un aumento en la actividad de la guanilatociclasa que conlleva la conversión del GTP a GMPc para causar una respuesta fisiológica como diarrea (Eley, 1992; Davis, 1996).

El análisis de la secuencia ha mostrado que todas las TE están estructuralmente relacionadas entre sí y poseen un elevado número de puentes disulfuro, lo que puede explicar su estabilidad al calor, siendo estable a 100°C durante 15 minutos (ICMSF, 1996).

Al contrario que la TL, la toxina TE no estimula una respuesta inmune en los individuos infectados.

E. coli enteropatógeno

En el caso de las cepas ECEP, se sugiere la elaboración de alguna forma de producto enterotóxico, diferente de la toxina termolábil o la toxina termoestable encontradas en las cepas ECET. Las cepas ECEP parece que sintetizan toxinas que inducen la secreción de fluidos en el intestino, y también de citotoxinas. Se ha encontrado también que las cepas ECEP elaboran una citotoxina que es enterotóxica y semejante a una toxina sintetizada por algunas especies de *Shigella* (Murray, 1997).

Las células ECEP se adhieren firmemente a la superficie de las células epiteliales intestinales, erosionando la membrana del enterocito y ocasionando una destrucción localizada de las microvellosidades, pero sin invasión manifiesta de las células.

E. coli enteroinvasivo

Los miembros de esta clase, serológicamente diferente, se parecen mucho a *Shigella* en cuanto a sus mecanismos patógenos y al tipo de clínica que producen.

ECEI penetra y se multiplica dentro de las células epiteliales del íleon distal y del colon de los primates, ocasionando amplia destrucción celular (Davis, 1996).

E. coli enterohemorrágico

Las cepas ECEH producen una o más verotoxinas codificadas por fagos (VTs) denominadas VT1, VT2 y VT3. Estas toxinas están estrechamente relacionadas con la toxina *Shiga* producida por *Shigella dysenteriae*, agente etiológico de la disentería bacilar (Davis, 1996; Murray, 1997).

La verotoxina (VT) producida por *Escherichia coli* ha sido reconocida como la mayor causa de colitis hemorrágicas y diarreas asociadas al síndrome urémico-hemolítico. *E. coli* O157 es una de las especies prevalentes.

Entre los efectos patógenos, se incluyen cambios morfológicos en las células epiteliales, una actividad mitótica incrementada en las criptas, la depleción de la mucina y una infiltración de células polimorfonucleares en la mucosa. Estas modificaciones están asociadas siempre a la presencia de VT libres en el colon y el resultado es una diarrea acuosa y/o sanguinolenta.

b) ENZIMAS

E. coli posee la enzima β -D-glucuronidasa, que tiene la facultad de romper el sustrato 4-metil-umbeliferil- β -D-glucurónico (MUG). Esta sustancia, incorporada al medio de cultivo, libera como producto final 4-metil-umberiferona, por acción de la enzima. Este producto tiene la propiedad de emitir fluorescencia azul/verde cuando se ilumina con luz ultravioleta. Las cepas ECEH no poseen la enzima β -D-glucuronidasa.

En la tabla 8 se esquematiza las gastroenteritis causadas por los distintos tipos de *E. coli*.

Tabla 8. Gastroenteritis causada por *Escherichia coli*.

Microorganismo	Lugar de acción	Enfermedad	Patogenia
<i>E. coli</i> enterotoxigénico (ECET)	Intestino delgado	Diarrea del viajero; diarrea infantil en países subdesarrollados; diarrea acuosa, retortijones, náuseas, febrícula.	Enterotoxinas termoestables y/o termolábiles; estimula la actividad guanilato o adenilatociclasa con pérdida de líquidos y electrólitos.
<i>E. coli</i> enteroinvasivo (ECEI)	Intestino grueso	Fiebre, retortijones, diarrea acuosa seguida por cuadro disentérico con heces sanguinolentas escasas.	Invasión y destrucción de las células epiteliales que tapizan el colon mediadas por plásmidos.
<i>E. coli</i> enteropatogénico (ECEP)	Intestino delgado	Diarrea infantil con fiebre, náuseas, vómitos, heces sin sangre.	Adherencia y destrucción de las células epiteliales mediadas por plásmidos.
<i>E. coli</i> enterohemorrágico (ECEH)	Intestino grueso	Colitis hemorrágica con retortijones intensos, diarrea acuosa al principio,	Mediada por “verotoxina” citotóxica.

seguida por heces
teñidas con sangre,
fiebre escasa o nula;
síndrome urémico
hemolítico.

Fuente: Murray, 1997.

II.2.5.3.3. EPIDEMIOLOGÍA Y CLÍNICA

Las *E. coli* se encuentran ampliamente distribuidas en los seres humanos y los animales, como uno de los principales componentes de la flora intestinal normal. Su distribución en la naturaleza se relaciona con este hábitat, y el microorganismo sólo se aísla en áreas contaminadas por heces. La contaminación del agua potable y ciertos vegetales tiene importancia para la diseminación de *E. coli* y su prevalencia en el suelo también guarda relación, probablemente, con la contaminación fecal (Piédrola, 1991).

Las *E. coli* productoras de infección intestinal son transmitidas por vía feco-oral y rara vez lo hacen por contacto directo persona-persona. Los alimentos y el agua constituyen los principales medios para la transmisión de las cepas de *E. coli* productoras de diarrea (Piédrola, 1991).

Las cepas de *E. coli* presentes en los alimentos pueden proceder del hombre o de los animales. En el primer caso, la contaminación sería de origen exógeno, mientras que en el segundo podría ser endógena o exógena (Bourgeois, 1994).

Los alimentos de todo tipo pueden contaminarse con cepas de *E. coli* a partir de manipuladores, excretas humanas, etc. En la transmisión de la enteritis en adultos parecen desempeñar un papel importante los alimentos y el agua, mientras que en la enteritis infantil el contagio más frecuente sería por contacto (Eley, 1992; Bourgeois, 1994).

Las cepas ECET pueden aislarse de muchos alimentos crudos, especialmente de aquellos de origen animal. Una investigación prospectiva de la diarrea del viajero en los médicos que asistían a una conferencia en la Ciudad de México, reveló que ECET explicaba aproximadamente el 45% de los casos de diarrea y que la

enfermedad estaba relacionada con el consumo de ensaladas que contenían hortalizas crudas (ICMSF, 1996).

Los alimentos implicados, en la detección de cepas ECEH generalmente, son la carne de vacuno cruda o insuficientemente cocinada, las carnes frías, los productos cárnicos, las verduras frescas, y la leche cruda.

***E. coli* enteroinvasivo**

El grupo de *E. coli* enteroinvasivo (ECEI) es el integrado por cepas invasoras que elaboran una citotoxina y originan una enfermedad invasora, colitis, o un síndrome disenteriforme. Estos serotipos se multiplican en el colon e invaden o penetran en las células epiteliales de su mucosa.

Tras un período de incubación de 8 - 24 horas después de haber ingerido el alimento contaminado, con una media de 11 h aparecen los síntomas, consistentes principalmente en, abundante diarrea acuosa, a veces con presencia de sangre y/o mucus, fiebre, escalofríos, cefalalgia, mialgia, retortijones abdominales. Los síntomas varían en tipo y severidad dependiendo del serotipo (Piédrola, 1991; Eley, 1992).

Tras unos pocos días, la infección suele resolverse por sí misma y, con la excepción de diarrea intensa en la que los pacientes pueden requerir rehidratación, no suele hacerse necesaria otra forma de tratamiento (Eley, 1992).

***E. coli* enterotoxigénico**

Para que se desencadenen las enfermedades enterotoxigénicas, se precisa la ingestión de serotipos de *E. coli* ECET, que tras la ingestión, sobreviven al ambiente hostil del estómago, colonizan el tramo superior del intestino delgado atravesando la capa de mucus y adhiriéndose a las células de la mucosa. Donde producen las dos enterotoxinas TE y TL (Eley, 1992; Frazier, 1993).

Parece ser que las enterotoxinas intervienen en el paso de agua a la luz intestinal. Esta acumulación de líquido tiene lugar sin que se produzca ninguna

modificación macroscópica importante en el epitelio intestinal y sin que exista ni penetración ni invasión de las bacterias, creyéndose que son las causantes de las enfermedades diarreicas de los niños y de la *diarrea del viajero*. Además, juega un importante papel la presencia de un antígeno de colonización que permite la adherencia del microorganismo a la mucosa intestinal.

La diarrea del viajero, que puede ser muy severa y discapacitante, es indudablemente el problema sanitario más frecuentemente asociado con los viajes a países subdesarrollados. El comienzo de la gran mayoría de los casos de diarrea del viajero suele producirse entre 5 y 15 días después de la llegada. La enfermedad típicamente se manifiesta con malestar general, anorexia y cólicos abdominales seguidos de la instalación brusca de una diarrea líquida. La diarrea, por lo general, no es inflamatoria ni se acompaña de la eliminación de moco o pus. Puede aparecer febrícula en aproximadamente un tercio de los pacientes. La duración habitual es de 1 a 5 días, pero en un porcentaje significativo de individuos (19-50%) la diarrea persiste por más de 5 a 10 días. (Mandell, 1997).

En general, parece que el riesgo de adquirir una diarrea del viajero se aproxima al 50% cuando el desplazamiento se produce desde un área de clima templado hacia un área de clima tropical con una estadía de 2 semanas o más. La tasa de ataque aparentemente disminuye con la edad a partir de los 25 años, observación que podría reflejar diferencias en los hábitos y la exposición más que una susceptibilidad inherente a la edad (Mandell, 1997).

En otros casos existe un período de incubación de 8 a 44 horas, con una media de 26 horas donde aparece la diarrea, que puede ser bastante severa (deposiciones que parecen agua de arroz), vómitos, fiebre y dolor abdominal.

Esta enfermedad puede extenderse desde uno a siete días. Sin embargo, en niños mal alimentados en los países en vías de desarrollo, la gastroenteritis puede durar semanas y causar una severa malnutrición. Si la diarrea es severa o persiste un largo período de tiempo habrá de considerarse la rehidratación.

El tratamiento actual de las infecciones por ECET es la simple reposición del equilibrio hidroelectrolítico por medio de glucosa y electrolitos, por vía oral o intravenosa, y el uso de agentes farmacológicos para reducir la diarrea.

***E. coli* enterohemorrágico**

Las cepas hemorrágicas de *E. coli* (ECEH) producen una típica colitis hemorrágica cuyos síntomas se caracterizan por una diarrea acuosa copiosa, y/o sanguinolenta y dolor abdominal intenso. Puede aparecer vómito, habrá poca o ninguna fiebre. Algunos casos han evolucionado hacia una seria patología denominada síndrome urémico-hemolítico que consiste en una triada de síntomas: fallo renal agudo, trombocitopenia y anemia hemolítica microangiopática (Eley, 1992).

Un rasgo de ECEH es la alta variabilidad en el período de incubación, que puede ir de 2 a 8 días, pero en ocasiones alcanza los 12 días.

Aunque la mayoría de los pacientes sufren una enfermedad autolimitante de unos 8 días de duración, se han notificado casos mortales en pacientes ancianos que sufrían problemas médicos. En los niños, especialmente, debe cuidarse la posible progresión de los síntomas de colitis hemorrágica hacia síndrome urémico hemolítico.

La dosis infectante mínima de *E. coli* O157:H7 es baja, se estima entre 10^2 y 10^3 bacterias.

El tratamiento constituye un problema, pues hay poca evidencia de que la terapia antimicrobiana sea efectiva. Sin embargo, en las infecciones serias, la ciprofloxacina es la droga de elección (Eley, 1992).

II.2.5.3.4. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de una intoxicación por *E. coli* debe ser basado en los siguientes criterios de laboratorio y/o epidemiológicos (Frazier, 1993):

- Demostración de microorganismos del mismo serotipo tanto en los alimentos implicados epidemiológicamente como en las deposiciones de las personas enfermas.
- Aislamiento de 10^5 UFC/g del mismo serotipo en los alimentos implicados.
- Aislamiento de un microorganismo del mismo serotipo en las deposiciones de la mayoría de las personas enfermas y, si es posible, los microorganismos deben ser ensayados en cuanto a su enterotoxigenidad y a su capacidad invasora mediante técnicas de laboratorio especiales.

Al igual que ECET, las cepas de ECEP no se diagnostican actualmente en el laboratorio clínico.

La capacidad invasora de una cepa se demuestra al constatar su habilidad para producir una queratoconjuntivitis en el ojo del cobaya o invadir *in vitro* las células de la línea HeLa, y también por pruebas inmunológicas que detectan la presencia de proteínas específicas localizadas en la membrana externa de la pared y promotoras de la invasión. La producción de enterotoxinas TE o TL, actualmente puede detectarse por técnicas inmunológicas. En ambos casos, los genes codificantes de estos factores de patogenicidad (invasores y toxigénicos) pueden detectarse por técnicas genéticas, incluyendo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Margall, 1997).

Para detectar *E. coli* O157:H7 en los alimentos, se ha ideado una técnica ELISA basada en un anticuerpo monoclonal altamente específico para *E. coli* enterohemorrágico. Combinada con el enriquecimiento de las muestras durante la noche, esta técnica es capaz de detectar *E. coli* O157:H7 en los alimentos en menos de 24 horas (ICMSF, 1996).

II.2.5.3.5. CONDICIONES PARA QUE SE PRODUZCA UN BROTE

Para que se presenten tanto la enfermedad enterotoxigénica como la enfermedad invasora son necesarios los siguientes factores:

1. Una elevada dosis de ECEP o de ECEI (Frazier, 1993).

2. Los alimentos deben estar contaminados masivamente (10^5 - 10^7 UFC/g) (Eley, 1992; Frazier, 1993).
3. Los alimentos deben estar incorrectamente conservados o refrigerados (Frazier, 1993).

II.2.5.3.6. MEDIDAS PREVENTIVAS

En primer lugar, tenemos que tratar los afectados, potenciales fuentes de infección, para ello, son fundamentales la prevención y corrección de la deshidratación, mediante administración apropiada de líquidos, que pueden usarse por vía oral o intravenosa según la intensidad de la deshidratación, la magnitud de la pérdida hídrica y los recursos disponibles (Piédrola, 1991).

Las medidas de prevención de esta infección deben tender a:

1. Evitar que los alimentos frescos (leche, carne) puedan ser vehículo de cepas, mediante el adecuado control: pasteurización de la leche, higiene de la obtención de la carne en el matadero y decomiso de los animales afectos de colibacilosis (Mossel, 1985).
2. Vigilar la contaminación de origen exógeno de los alimentos frescos y la recontaminación de los alimentos higienizados (Mossel, 1985).
3. Refrigeración adecuada de los alimentos, para impedir el posible crecimiento de las cepas de *E. coli* enteropatógeno presentes en los mismos (Mossel, 1985).
4. Enfriar rápidamente los alimentos en pequeñas cantidades (Frazier, 1993).
5. Reducir el posible riesgo de contaminación fecal indirecta, evitando las aguas residuales contaminadas y cocinando totalmente los alimentos potencialmente contaminados (Eley, 1992; Frazier, 1993; ICMSF, 1996).
6. Evitar la contaminación fecal directa del alimento debida a la relajación de la higiene personal, especialmente de los manipuladores (Eley, 1992; Frazier, 1993; ICMSF, 1996).
7. Preparar los alimentos de forma higiénica (Frazier, 1993; ICMSF, 1996).
8. No utilizar, en ninguna circunstancia, aguas residuales no tratadas para el riego de verduras o cereales (Eley, 1992; Frazier, 1993).

9. El consumidor debería evitar ingerir alimentos crudos o parcialmente cocinados de origen animal (Eley, 1992).

La prevención de la diarrea del viajero debe tener por finalidad evitar la ingestión de agentes infecciosos en los alimentos y el agua. Las ensaladas, los vegetales crudos y el agua (o el hielo) no tratada son sustancias de alto riesgo. El agua sin gas en botellas no debe considerarse segura, dado que ciertos brotes epidémicos de cólera y fiebre tifoidea han sido atribuidos a la ingestión de agua y otras bebidas embotelladas, respectivamente. Se ha sugerido que incluso un calentamiento breve (10 minutos) a una temperatura de 50-55°C (la temperatura de algunos grifos de agua caliente en los que el agua sale “demasiado caliente como para tolerar el contacto con las manos”) podría eliminar numerosos parásitos y bacterias patógenos. Las precauciones relacionadas con la ingestión de alimentos y bebidas podrían reducir el riesgo de enfermedad a menos del 15%, aún en áreas altamente endémicas (Mandell, 1997).

II.2.5.4. SALMONELLA

II.2.5.4.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

El género *Salmonella* representa un complejo grupo microbiano, del que se conocen más de 1.800 especies, en su mayoría patógenas para el hombre, los animales o ambos (Fernández-Crehuet, 1991).

Género de la familia de las *Enterobacteriaceae*, su clasificación es confusa. En la actualidad, los aislamientos de microorganismos de este género se identifican utilizando el esquema de Kauffman-White, método serológico en el que los microorganismos se pueden representar mediante cifras y letras correspondientes a los diferentes sitios antigénicos: O(somáticos), Vi(capsulares) y H(flagelares) (Eley, 1992; Frazier, 1993; Bourgeois, 1994; Mandell, 1997).

Son bacilos gram-negativos, aero-anaerobios facultativos, móviles con flagelos peritricos, que fermentan la glucosa con producción de ácido, reducen los nitratos a nitritos y no producen citocromo-oxidasa. Crecen bien a temperatura ambiente, si bien su temperatura óptima de crecimiento es de aproximadamente de 37°C.

El intervalo de pH de crecimiento se halla comprendido entre un rango de 4.1 y 9, multiplicándose, por lo tanto, en los alimentos de baja acidez. El pH óptimo de crecimiento varía entre 6.5 y 7.5 (Bourgeois, 1994).

El ritmo del crecimiento de las salmonelas se reduce sustancialmente a temperaturas < 15°C, mientras que el crecimiento de la mayoría de las salmonelas está inhibido a temperaturas < 7°C. Cuando se sobrepasa la temperatura máxima de crecimiento, sobreviene la muerte. La tasa de muerte aumenta a medida que aumenta la temperatura. La temperatura máxima de crecimiento (49.5°C) es importante como valor por encima del cual deben ser mantenidos los alimentos almacenados calientes para impedir el crecimiento de las salmonelas. La termorresistencia está influida por la actividad de agua, por la naturaleza de los solutos y por el pH del medio

suspendente. La termorresistencia aumenta a medida que disminuye la actividad de agua del sustrato. La disminución del pH reduce la termorresistencia. A los mismos valores de a_w , se observa una termorresistencia mayor de las células en sacarosa si se compara con la que presentan en NaCl (ICMSF, 1996).

En la tabla 9 se observan algunas de las reacciones a las pruebas bioquímicas de las salmonelas.

Tabla 9. Reacciones a las pruebas bioquímicas de las salmonelas.

Reacciones de las <i>Salmonelas</i>		
Lisina - descarboxilasa	+	Fondo tubo rojo
SH₂	+	Ennegrecimiento
Ureasa	-	Color sin cambio
Caldo lisina decarboxilasa	+	Color rojo
Caldo rojo fenol dulcitol	+	Color amarillo y gas
Caldo rojo fenol lactosa	-	Color sin cambio
Caldo rojo fenol sacarosa	-	Color sin cambio
Caldo KCN	-	No crece
Rojo metilo (RM)	+	Color rojo
Voges Proskauer (VP)	-	Color sin cambio
Citrato	V	Azul : crecimiento (+) Sin cambio de color ni crecimiento (-)

V : reacción variable

II.2.5.4.2. PATOGENIA

Se pueden distinguir dos tipos patogénicos diferentes en el estudio clínico-epidemiológico de las salmonelas no tifoideas, uno el que origina cuadros de gastroenteritis tipo toxiinfección alimentaria y otro que se caracteriza por septicemia con infección focal o sin ella.

Los bacilos de *Salmonella* que sobreviven al paso por el estómago probablemente se duplican dentro de la luz intestinal antes de penetrar en las células epiteliales del intestino delgado distal, del ciego y del intestino grueso proximal.

Estas salmonelas llegan al íleon y al ciego, fijándose en la mucosa, penetrando por un mecanismo semejante a la fagocitosis e invadiendo el epitelio y la lámina propia, donde se multiplican y producen una reacción inflamatoria (capacidad enteroinvasiva). Estudios recientes han demostrado una enterotoxina que estimularía la salida de líquidos y electrolitos hacia la luz intestinal en un mecanismo parecido a cualquier diarrea enterotóxica, aumentando la adenilciclase por incremento de la síntesis de las prostaglandinas. Recientemente, se han publicado la localización cromosómica del gen responsable de la producción de esta enterotoxina y que dicho gen tiene secuencias homólogas con el que codifica la toxina colérica (Fernández-Crehuet, 1991; Mandell, 1997).

Es probable que la capacidad de las salmonelas para sobrevivir dentro de los macrófagos sea esencial para la patogenia y la diseminación final de los microorganismos más allá del intestino hasta la circulación sistémica (Mandell, 1997).

El tamaño del inóculo necesario para producir gastroenteritis es todavía desconocido y posiblemente muy variable, aunque la ingestión de 10000 o más bacilos de *Salmonella* puede ya producir enfermedad en un 25% de voluntarios sanos, ya que está demostrado que influyen, favoreciendo la enfermedad, diversos factores entre los que destacan la aclorhidria medicamentosa o quirúrgica, el consumo de marihuana o simplemente la edad (Mandell, 1997).

La enfermedad cura de forma espontánea al ser muy superficial la agresión intestinal y estar favorecida la eficacia de los sistemas celulares de depuración, ya que la breve supervivencia de las células epiteliales de la lámina propia y el hecho de inflamarse impiden el paso de los microorganismos a los linfáticos y capilares, ocurriendo en ellos excepcionalmente la forma septicémica.

Las formas bacteriémicas tienen un mecanismo similar al de la fiebre tifoidea e incluso clínicamente pueden confundirse, aunque el cuadro diarreico en la fiebre tifoidea suele menos intenso.

Durante los primeros 7 a 10 días de infección por *Salmonella typhi*, los individuos se encuentran generalmente asintomáticos y los bacilos tifoideos desaparecen de las heces. La respuesta mononuclear es más intensa, con hiperplasia de los nódulos linfáticos mesentéricos. La fiebre y los demás síntomas de endotoxemia acompañan la diseminación bacilar desde las células infectadas del sistema reticuloendotelial a la corriente sanguínea. Se infectan también el hígado y el árbol biliar, lo que supone una reinvasión del tracto intestinal.

Existen diversas enfermedades que favorecen las manifestaciones clínicas de la infección por *Salmonella*, especialmente las que disminuyen las defensas del huésped. El haber recibido tratamiento antibiótico para curar el cuadro diarreico, está demostrado que es innecesario, llegando en algunas ocasiones a ser claramente perjudicial, al prolongar el tiempo de eliminación de *Salmonella* por las heces.

Dentro de los determinantes de patogenicidad son importantes los siguientes:

- ◆ Toxinas
- ◆ Antígenos de superficie
- ◆ Flagelos

Se ha descrito la existencia de una enterotoxina termolábil, parecida a la toxina del cólera y a la TL de *E. coli*, en una cepa de *S. typhimurium*. Durante la gastroenteritis por *Salmonella*, se producen cambios citopáticos, atribuibles probablemente a la citoxina asociada con la fracción de membrana externa bacteriana, aunque su estructura y su papel en la enfermedad permanecen desconocidos (Davis, 1996).

El lipopolisacárido (LPS), también llamado endotoxina, es responsable de la toxicidad de la cubierta celular gramnegativa. Mediante hidrólisis ácida suave se obtienen dos moléculas: el lípido A, liposoluble, y el antígeno polisacárido O (Ag

O), hidrosoluble. El lípido A puede activar los macrófagos, lo que origina fiebre, leucocitosis e hipotensión.

Los Ag O específicos son importantes para la virulencia de las salmonelas al disminuir su susceptibilidad a la fagocitosis y por su capacidad para activar la vía alternativa del complemento. En las células de *S. typhi* el antígeno Vi capsular también contribuye a la virulencia.

El efecto de la pérdida de los flagelos parece ser una disminución de la capacidad para la supervivencia y el crecimiento dentro de los macrófagos.

II.2.5.4.3. EPIDEMIOLOGÍA Y CLÍNICA

Los reservorios de la enfermedad en el hombre son extraordinariamente variados, predominando los de origen heterólogo (animal) sobre los homólogos (humanos). Los animales productores de carne y las aves de corral son, en general, los que se encuentran comprometidos con mayor frecuencia. La infección suele proceder de los piensos y alimentos de estas aves, que son elaborados con productos secundarios de otros animales infectados (harina de pescado o de carne desechadas para el consumo humano) (Fernández-Crehuet, 1991).

Solamente muy pocos tipos de *Salmonella* son estrictos de alguna especie animal. Es el caso de *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* en el hombre o *Salmonella abortus-equi*, *Salmonella typhi-suis* y *Salmonella gallinarum-pullorum* en los equinos, porcinos y aves respectivamente. La transmisión de estas salmonelas no ubicuas sólo puede ocurrir entre individuos de igual especie, no existiendo huésped intermediario. Generalmente, la difusión de estas salmonelas se hace por vía digestiva al consumir agua o alimentos contaminados por las heces de un enfermo o portador. Todo ello explica que la principal actuación sanitaria en el control de estas infecciones esté basada en la lucha contra el riesgo fecal, fomentando las normas generales de higiene personal y las medidas encaminadas a mejorar el saneamiento de la comunidad (Fernández-Crehuet, 1991).

Los intercambios mundiales en materia alimentaria tanto para el hombre como para los animales representan una auténtica exportación de agentes patógenos, entre los que destacan las salmonelas. Es el caso de *Salmonella hadar* relacionada con la cría de pavas y cada vez se aísla con mayor frecuencia en el hombre. Otros ejemplos son *Salmonella agona* de origen chileno, *Salmonella wien* del norte de Africa, etc.

Los huevos y sus productos derivados son frecuentemente origen de cadenas epidemiológicas, ya que los microorganismos pueden incorporarse al huevo antes que el cascarón se calcifique por completo en la gallina o el huevo se contamina en el momento de la expulsión. Los huevos con fisuras o incluso sucios con excrementos deben ser considerados como potencialmente peligrosos debido a la frecuente excreción de *Salmonella* en aves aparentemente sanas.

Un pequeño porcentaje (0,5%) de huevos está contaminado con *S. enteritidis* y el tejido ovárico de las gallinas que producen huevos contaminados también está infectado, por lo tanto, los huevos crudos no deberían ser usados en comidas como mousse, helados y mayonesa, ya que, no reciben un tratamiento térmico suficiente para matar estos microorganismos (Doyle, 1992).

Alrededor del 50% de los pollos de los Estados Unidos son cultivo-positivos para *Salmonella* (Mandell, 1997).

Los hallazgos de Hedberg y colaboradores en 1994 demuestran que los huevos son un importante vehículo de *S. enteritidis* y *S. typhimurium* y pueden tener un amplio papel en la epidemiología de la salmonelosis humana.

En relación con los animales cárnicos cabe afirmar que, en la mayoría de las ocasiones, las salmonelas quedan muy superficiales como consecuencia de haber sido adquiridas al contacto con algún lugar de los mataderos o de las plantas industrializadas. Resulta obvio que la vigilancia epidemiológica en animales es de suma importancia, ya que la fuente de la gran mayoría de las salmonelosis no tíficas son alimentos de origen animal (Fernández-Crehuet, 1991).

En un estudio realizado sobre platos cocinados se detectó *Salmonella* en los cárnicos en un 0.9%, atribuible en especial a la carne de pollo, que es considerada como uno de los principales vehículos de transmisión de la salmonelosis al hombre (Ferrer, 1992).

En Estados Unidos en los años noventa el vehículo más importante de brotes de salmonelosis fue el pollo (45%), seguido de la carne de vaca (25%) y del pavo (19%) (Potter, 1992).

La infección puede manifestarse clínicamente o no. En la forma subclínica, el animal puede sufrir una infección latente y albergar el patógeno en sus ganglios, o ser portador y eliminar el agente por las materias fecales, en forma transitoria, intermitente o persistente.

Los principales causantes de salmonelosis clínica en los bovinos son el serotipo dublín (especie *Salmonella enteritidis*) y *Salmonella typhimurium*.

El serotipo más común hallado en la gastroenteritis de ovinos y caprinos es *Salmonella typhimurium*. Asimismo, se han aislado muchos otros serotipos. El serotipo *abortus ovis*, que causa abortos y gastroenteritis en ovinos y caprinos, parece limitado a Europa.

El patógeno más importante en los equinos es *abortus equi*, que causa abortos en yeguas y artritis en potrillos. Es de distribución mundial.

El cerdo es huésped de numerosos serotipos de *Salmonella* y constituye el reservorio principal de *Salmonella choleraesuis*.

Hay dos serotipos, *pullorum* y *gallinarum*, que están adaptados a las aves domésticas, pero son poco patógenos para el hombre (Fernández-Crehuet, 1991).

En el hombre pueden darse cuatro formas de manifestarse la infección por especies de *Salmonella*:

- Gastroenteritis aguda
- Septicemias con infección focal o sin ellas.
- Fiebre entérica (tifoidea)
- Colonización asintomática

Gastroenteritis o enteritis aguda

La infección se produce generalmente por consumo de alimentos o por agua de bebida contaminados por heces y es la responsable de casi el 15% de las infecciones e intoxicaciones alimentarias en Estados Unidos. Pudiendo ser su causa cualquier *Salmonella* a excepción de la *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi A* (Fernández-Crehuet, 1991; Davis, 1996).

Los síntomas clínicos se presentan entre las 8 y 48 horas (generalmente 24) después de la ingesta de alimentos contaminados. El comienzo suele ser repentino con dolor abdominal tipo cólico, seguido de náuseas y diarrea. Las heces son acuosas y profusas, y con frecuencia presentan moco y algunas trazas de sangre. La diarrea persiste como el síntoma destacado durante 3 ó 4 días y desaparece generalmente al cabo de una semana. El vómito puede faltar o prolongarse poco tiempo. Sin embargo, la fiebre es lo habitual al menos durante 48 horas, acompañada casi siempre de cefalea intensa.

Septicemias por *Salmonella* con infección focal

Esta forma de la enfermedad presenta siempre antecedentes de fiebre, escalofrío, sudoración, malestar, anorexia y pérdida de peso. En una pequeña proporción de casos pueden presentarse localizaciones secundarias en cualquier órgano del cuerpo (Fernández-Crehuet, 1991).

Fiebre intestinal

S. typhi produce una enfermedad febril conocida como fiebre tifoidea. Tras un período de incubación de 10 a 14 días después de la ingestión de los bacilos, el paciente desarrolla fiebre remitente progresiva, con molestias inespecíficas en forma de cefalea, mialgias, malestar general y anorexia. Estos síntomas persisten durante una semana o más y dan paso a síntomas gastrointestinales (Murray, 1997).

Colonización asintomática

Las salmonelas causantes de las fiebres tifoidea y paratífica son mantenidas por portadores humanos. Entre el 1 y el 5% de los pacientes experimentan colonización crónica durante más de un año después de la enfermedad sintomática, y la vesícula biliar representa el reservorio en la mayoría de los casos (Mandell, 1997).

Prácticamente cualquier alimento de origen animal puede ser fuente de origen de infección para el hombre. Los vehículos más comunes son las carnes contaminadas de aves, cerdos y bovinos, el huevo, la leche y los subproductos de ambos. A veces también se han indicado alimentos de origen vegetal como vehículos de la salmonelosis humana, por transferencia de la contaminación de productos de origen animal y falta de higiene en las plantas procesadoras o en la cocina. El agua contaminada del suministro público o privado es una importante fuente de infección en la fiebre tifoidea (*Salmonella typhi*) y, con menos frecuencia, en otras salmonelas (Fernández-Crehuet, 1991).

Por lo común, el hombre adquiere la infección al ingerir alimentos contaminados. Factores importantes que contribuyen a la enfermedad son los siguientes:

- La cocción inadecuada
- El lento enfriamiento de los alimentos
- El mantenimiento de éstos durante muchas horas sin refrigeración
- El insuficientemente recalentamiento antes de servirlo.

El hombre puede contraer la infección en forma directa de los animales. La transmisión interhumana es especialmente importante en hospitales y colectividades cerradas; los niños son las víctimas principales. Los insectos, en particular las moscas, pueden tener cierta participación como vectores mecánicos en ambientes muy contaminados.

Casi la mitad de las personas infectadas continúan excretando salmonelas 1 mes después de la desaparición de los síntomas y una de cada 20 todavía lo hace hasta 5 meses después. Los individuos que continúan excretando el organismo

después de 1 año se consideran portadores. Deben exigirse tres muestras negativas de heces en los individuos de alto riesgo cuyo trabajo implique tocar alimentos no envueltos que se consuman crudos o sin mayor cocción (Mandell, 1997).

Los animales portadores son los principales causantes por excreta y por huevos infectados, del ciclo de animal a animal. Los piensos contaminados desempeñan un papel importante al servir como vehículo de la infección.

El origen de la contaminación alimentaria puede ser endógeno o exógeno. Entendemos por exógeno cuando las salmonelas proceden del propio animal o derivado alimentario (p. ej., huevos infectados).

La proporción máxima de infecciones suele ocurrir en las épocas más calurosas, al permitir una mejor multiplicación bacteriana en los alimentos y coincidir con frecuentes fallos en la cadena de frío.

Las infecciones por *Salmonella* muestran una clara predilección por la infancia.

La presentación suele tener carácter epidémico con un antecedente común, el consumo de un determinado alimento. La investigación epidemiológica del brote suele detectar un lavado inapropiado de las manos, una refrigeración inadecuada de alimentos preparados mucho antes de servirse o un cocinado insuficiente de productos alimentarios de origen animal, especialmente de aves de corral.

II.2.5.4.4. DIAGNÓSTICO

La detección rutinaria de las salmonelas supone una secuencia de pre-enriquecimiento, siembra en placas de medios selectivos, aislamiento e identificación.

El pre-enriquecimiento se puede llevar a cabo dependiendo del grado de probabilidad de que en el alimento existan células dañadas. Se utiliza cuando se analizan alimentos que han sido calentados, congelados y desecados y en aquellos alimentos en los que es de esperar que se encuentren células de salmonelas en escaso número. Reduce cualquier efecto que el propio alimento pueda ejercer sobre la selectividad del caldo de enriquecimiento (ICMSF, 1996).

El enriquecimiento selectivo tiene por finalidad inhibir el crecimiento de otros microorganismos a la vez que permite que las salmonelas crezcan. Se consigue mediante el empleo de compuestos químicos inhibidores, de una temperatura y una duración de la incubación determinadas, que permiten que la proporción de salmonelas con respecto a los demás microorganismos aumente de modo que puedan ser identificadas en placas de medios selectivo-diferenciales o mediante técnicas de identificación (ICMSF, 1996).

En la gastroenteritis o enteritis aguda el coprocultivo es, generalmente, positivo en la fase aguda de la enfermedad. Siendo frecuente la excreción de *Salmonella* desde una semana a dos meses después del comienzo de la enfermedad.

Las heces se siembran directamente en placas de agar. Los medios de baja sensibilidad como el agar de MacConkey y el de desoxicolato o el agar de selectividad intermedia como el medio para salmonela-shigela (SS) o de Hektoen son utilizados ampliamente. También está el medio altamente selectivo del verde brillante. Se prefiere el agar sulfito de bismuto para el aislamiento de *S. typhi* y también puede utilizarse para la detección de cepas de *Salmonella* que fermentan la lactosa. Es posible emplear caldos de enriquecimiento para aumentar el aislamiento de pequeñas cantidades de microorganismos en las deposiciones. Los caldos de enriquecimiento para *Salmonella* son altamente selectivos; los más utilizados son el caldo de tetrionato, el tetrionato con verde brillante y el caldo de selenita (Mandell, 1997).

Después del aislamiento primario las posibles cepas pueden ser evaluadas en sistema comerciales de identificación o inoculadas en medios de selección tales

como agar hierro-triple azúcar y agar hierro-lisina en tubos. Los aislamientos con perfiles bioquímicos típicos para *Salmonella* deben ser evaluados para aglutinación en portaobjetos con antisueros polivalentes comerciales específicos para los antígenos del grupo O y el antígeno Vi de *Salmonella* (Mandell, 1997).

Las formas septicémicas basan su diagnóstico de laboratorio en el hemocultivo obtenido durante el período febril (Davis, 1996).

En relación con las resistencias de las salmonelas a los antibióticos, es conveniente insistir en la peligrosa posibilidad de que tal circunstancia pueda asociarse a otros factores, que aumenten la virulencia de las cepas infectantes.

Los métodos de cultivo clásicos son laboriosos y requieren 3-5 días para la identificación presuntiva de *Salmonella*. Por esta razón, han sido hallados métodos de detección más rápidos, que incluyen el anticuerpo fluorescente, las pruebas de hibridación DNA/DNA, la serología de enriquecimiento, la prueba de la inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA), la inmunoinmovilización en disco con filtro de membrana y las pruebas con fagos de *Salmonella* (ICMSF, 1996).

II.2.5.4.5. CONDICIONES PARA QUE SE PRODUZCA UN BROTE

Para que se pueda presentarse un brote de una infección gastrointestinal de origen alimentario por *Salmonella* son necesarias las siguientes condiciones:

- i. El alimento debe contener, o se debe contaminar, con bacterias del género *Salmonella* (Frazier, 1993).
- ii. Estas bacterias se deben encontrar en el alimento en número elevado, bien como consecuencia de que el alimento está muy contaminado, bien porque se han multiplicado en él; la presencia de un elevado número de estas bacterias en el alimento supone que éste debe ser un buen medio de cultivo, que la temperatura debe ser apropiada, y que ha debido transcurrir el tiempo suficiente para que haya tenido lugar una abundante multiplicación (Frazier, 1993).

- iii. Los microorganismos viables deben ser ingeridos (Frazier, 1993).

II.2.5.4.6. MEDIDAS PREVENTIVAS

Las medidas de profilaxis general se basan en los siguientes puntos:

1. Evitar la contaminación de los alimentos, disminuyendo las infecciones en el ganado y mejorando las condiciones higiénico-sanitarias en los lugares de crianza, sacrificio y venta. Asimismo, resulta extraordinariamente útil el control microbiológico de los piensos. Son fundamentales la vigilancia y la educación sanitaria de las personas (Mossel, 1985).

2. Destrucción de los microorganismos: el calor es la medida más adecuada (Mossel, 1985; Frazier, 1993).

3. Prevención en la proliferación microbiana: la refrigeración sería el único procedimiento, manteniendo el alimento a temperaturas inferiores a 10 °C hasta el momento de su transformación y consumo (Bourgeois, 1994; Frazier, 1993).

La profilaxis se basará fundamentalmente en la vigilancia epidemiológica, y en el control microbiológico de los alimentos y su manipulación. Los manipuladores de alimentos deben ser sanos e ir aseados. Naturalmente los alimentos no deben dejarse a temperatura ambiente ni un momento, pero si esto sucede, su cocción total destruirá las salmonelas.

Finalmente, hay que recordar que el frío no destruye las salmonelas, pero una cadena de frío que mantenga los alimentos ininterrumpidamente a una temperatura que no sobrepase los 4 °C impedirá que un alimento, incluso contaminado con un bajo número de bacterias, sea peligroso (Fernández-Crehuet, 1991).

En dos brotes de toxiinfección alimentaria ocurridos simultáneamente en la provincia de Toledo con una fuente de infección común señaló el reservorio humano

como origen del brote. El alimento implicado fue la tarta nupcial servida por la misma pastelería a los dos banquetes. Lo que se refleja por la presencia del mismo microorganismo (*Salmonella enteritidis*) en uno de los manipuladores de la pastelería y en los pasteles que no habían sido servidos en los banquetes, así como la constatación de que los ingredientes utilizados en la elaboración de la tarta nupcial eran productos comerciales pasteurizados (Fernández, 1994).

Por ahora, el control radica en proteger al hombre de la infección y en reducir la prevalencia en los animales. La inspección veterinaria de las carnes y del sacrificio de aves, y la supervisión de la pasteurización de la leche y de productos derivados del huevo son importantes en la protección del consumidor. Otra medida importante es la educación para la salud de manipuladores de alimentos y amas de casa sobre la cocción de los alimentos de origen animal y su refrigeración, así como de la higiene personal y ambiental.

A continuación se enumeran una serie de recomendaciones para reducir que los huevos de gallina puedan ser vehículo de transmisión de la salmonelosis:

- 1) Las recetas de cocina en las que se utilicen huevos crudos y que no se sometan a cocción deben sustituirse por el uso de huevos pasteurizados.
- 2) No se deben usar huevos crudos en la preparación de alimentos como elementos aglutinantes que se consuman sin cocinar, así como en alimentos y bebidas como refuerzo de la alimentación.
- 3) La preparación de mayonesas o salsas parecidas de elaboración casera deben prepararse con sustancias acidificantes (vinagre) que impidan el crecimiento de los microorganismos en caso de que existieran.
- 4) Los huevos deben almacenarse en lugar seco y fresco, evitando que entren en contacto con otros alimentos.
- 5) Cuando se almacenan grandes cantidades de huevos, se debe tener la precaución de consumir primero los que anteriormente en el tiempo se almacenaron.
- 6) Las manos se deben lavar antes y después de la manipulación de los huevos.
- 7) No se deben utilizar huevos con la cáscara rota o sucia.

- 8) Las superficies, recipientes y otros utensilios de cocina para la preparación de los alimentos deben limpiarse de forma regular y siempre entre la preparación de dos platos diferentes.
- 9) Los alimentos que contengan huevos deben consumirse inmediatamente después de su preparación; en caso de que se destinen a consumo en frío, deben conservarse en frigorífico.
- 10) Los platos que contengan huevos para su consumo en caliente deben alcanzar una temperatura superior a 60°C.

En el estudio de Arnedo y colaboradores (1991) realizado en un colegio público de Castellón ante un brote de toxiinfección alimentaria se obtuvo una relación significativamente estadística ($p < 0,025$) entre la enfermedad y la cantidad de porciones de huevos consumidos.

Notermans y colaboradores (1992) encuentra que los huevos y derivados, en España, cuentan con un 62% de posibilidades de producir un brote.

II.2.5.5. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

II.2.5.5.1. CARACTERISTICAS GENERALES

Los estafilococos se han agrupado desde hace mucho en la familia *Micrococcaceae*, sus miembros difieren notablemente en la composición de las bases de sus ácidos nucleicos y no están emparentados fundamentalmente entre sí; se ha demostrado que se relacionan más estrechamente con los bacilos que con los estreptococos.

Staphylococcus es un patógeno humano importante que causa una amplia variedad de enfermedades, desde infecciones cutáneas superficiales hasta enfermedades sistémicas potencialmente letales (Davis, 1996).

Todos los **estafilococos coagulasa positivos** de origen humano se agrupan bajo el nombre de *Staphylococcus aureus*. También están dos grupos de cepas coagulasa variables, específicas de los animales, como las especies *S. intermedius* y *S. hyicus* (Murray, 1997).

Los **estafilococos coagulasa negativos** muestran una heterogeneidad mucho mayor que los coagulasa positivos siendo la mayoría de las especies coagulasa negativas no patógenas o sólo patógenos oportunistas para el hombre, destaca la especie *S. epidermidis* (Murray, 1997).

El nombre *Staphylococcus* procede del término griego “racimo de cocos”. La denominación es apropiada dado que la disposición celular de estos cocos Gram positivos recuerda a un racimo de uvas, aunque esa forma es más característica de los estafilococos cultivados en medios de agar (Davis, 1996).

Son aerobios y anaerobios facultativos, mesófilos, no esporulados, inmóviles y capaces de crecer en un medio con el 10% de cloruro sódico y a temperaturas entre

18 y 40°C. El crecimiento es por lo general más exuberante bajo condiciones aeróbicas que anaerobias (Frazier, 1993).

Es un microorganismo termosensible: poblaciones de 10^6 células por mililitro o gramos de alimento perecedero será inactivado por una temperatura de 66°C mantenida durante 12 minutos como mínimo, o por una temperatura de 60°C mantenida durante 78 – 83 minutos. Sin embargo, algunos componentes o constituyentes del medio (lípidos, proteínas, azúcares, sales) pueden protegerle del calor. La termorresistencia varía según el tipo de alimento y cepa contaminante (Davis, 1996).

Es sensible a la acidez del medio. Tolera actividad de agua (a_w) baja. La a_w mínima de crecimiento tiene un valor de 0,86 en aerobiosis y de aproximadamente 0,90 en anaerobiosis. Para crecer necesita una fuente de nitrógeno orgánico. Toleran bastante bien los nitritos (Davis, 1996).

Sobrevive durante bastante tiempo en alimentos deshidratados o congelados.

Las colonias individuales en agar nutritivo son opacas, de bordes muy bien definidos, redondeadas, convexas y de 1 a 4 mm de diámetro. El clásico color amarillo dorado de las colonias de *S. aureus* se debe a unos carotenoides. La pigmentación es evidente, en general, tras 18 a 24 horas de crecimiento a 37°C, pero es más acusado si el cultivo tiene lugar a temperatura ambiente durante 24 a 48 horas más. Este pigmento no se produce en cultivos en medio anaerobio ni en cultivos líquidos. En agar sangre, se observa frecuentemente una zona clara de hemólisis (β -hemólisis) alrededor de las colonias (Davis, 1996).

La mayoría de las cepas crecen fácilmente en un medio artificial con glucosa, sales, 14 aminoácidos, tiamina y ácido nicotínico. En medios de digestión de carne crecen bien a una amplia gama de pH (4,8-9,4). Bajo condiciones aeróbicas producen catalasa y ácido a partir de la glucosa, manitol, xilosa, lactosa, sacarosa, maltosa y glicerol.

Los estafilococos están entre las más resistentes de todas las bacterias no formadoras de esporas. Permanecen vivos durante meses sobre la superficie de placas de agar selladas y almacenadas a 4°C.

Son DNasa, catalasa y coagulasa positivos.

II.2.5.5.2. PATOGENIA E INMUNIDAD

S. aureus produce un gran número de factores de virulencia, que incluyen por lo menos cinco toxinas citolíticas dañinas para las membranas (alfa, beta, delta, gamma y leucocidina), así como toxina exfoliativa, toxina 1 del síndrome de shock tóxico y cinco enterotoxinas. Las toxinas citolíticas se han denominado también hemolisinas, pero las actividades de las cuatro primeras no se limitan a los hematíes, mientras que la leucocidina es incapaz de lisar los eritrocitos. Las citotoxinas pueden lisar neutrófilos, con liberación de enzimas lisosómicas y lesión consiguiente de los tejidos vecinos (Davis, 1996).

Los animales son menos sensibles que el hombre a la acción de las enterotoxinas. La administración de enterotoxinas por vía oral en el mono y en lechones provoca vómitos (dosis emética media = 10 µg y 20 µg respectivamente). Los demás animales (perros, gatos) no reaccionan más que a inyecciones por vía intraperitoneal o intravenosa.

En el hombre la dosis mínima varía de 10 µg a menos de 1 µg, según la sensibilidad individual. La DE₅₀ (dosis emética que provoca el vómito al 50% de los individuos que la reciben) se estima en 0,2 µg/kg de peso corporal (Bourgeois, 1994).

a) TOXINAS Y TOXINOGENESIS

Se han descrito ocho enterotoxinas estafilocócicas distintas desde el punto de vista serológico (A, B, C₁, C₂, C₃, D, E, F). Las enterotoxinas son resistentes a la

hidrólisis por las enzimas gástricas y yeyunales y se muestran estables al calentamiento hasta 100°C durante 30 minutos. Así pues, una vez que los estafilococos productores de enterotoxinas han contaminado un producto alimentario y sintetizado sus toxinas, el recalentamiento del alimento carece de efecto protector (Davis, 1996).

Las enterotoxinas estimulan también el peristaltismo intestinal y tienen un efecto sobre el sistema nervioso central, que se manifiesta con vómitos intensos asociados a enfermedad gastrointestinal.

Las enterotoxinas son metabolitos segregados al medio de cultivo durante el crecimiento bacteriano, son proteínas de pequeño tamaño (pm= 26.000 - 30.000) compuestas por cadenas simples de aminoácidos replegadas en forma globular, unidas entre sí por puentes disulfuros formando los bucles de cistina. Como los aminoácidos de este bucle son parecidos en cada uno de los tipos de enterotoxina, se cree que constituyen la fracción tóxica de la molécula (Frazier, 1993).

La enterotoxina A es la que más frecuentemente se ha visto implicada en las infecciones alimentarias (80% de los casos), le siguen en orden decreciente, la D, C y B. Las C y D se encuentran en productos lácteos contaminados, y la B guarda relación con la enterocolitis pseudomembranosa estafilocócica (Bourgeois, 1994).

La enterotoxina E se ha detectado en muy raras ocasiones.

La enterotoxina F se ha demostrado bioquímicamente idéntica a la toxina 1 del “síndrome de shock tóxico” (TSST-1), que produce un síndrome de shock tóxico frecuentemente asociado al uso de tampones durante la menstruación (Davis, 1996).

La aptitud para producir enterotoxinas varía según el biotipo: las producen del 30 al 60% de las cepas del biotipo humano, el 10% de las del biotipo bovino, el 80% de las del ovino (Bourgeois, 1994).

La producción de toxinas tiene lugar bajo condiciones algo más estrictas que las requeridas para el crecimiento bacteriano, puede existir crecimiento sin toxinogénesis. Las toxinas son sintetizadas durante la fase de crecimiento exponencial de las bacterias en los alimentos, durante el almacenamiento.

La toxina se produce con una rapidez notable a temperaturas comprendidas 15,6 y 46°C y la producción es óptima a 40°C. En condiciones óptimas, la enterotoxina se puede poner de manifiesto entre las 4 y 6 horas (Frazier, 1993).

El tipo de alimento influye en la cantidad de enterotoxina producida. En el salmón se produce poca cantidad, mientras que en las carnes y en los pasteles rellenos de crema se produce mucha. Se supone que la existencia de grandes cantidades de almidón y proteína en los alimentos acrecienta la producción de toxina estafilocócica (Frazier, 1993).

Las concentraciones elevadas de enterotoxina en el alimento sólo se producen después de una abundante multiplicación del estafilococo, el número mínimo de gérmenes necesarios para la producción de toxina suficiente como para provocar el envenenamiento es evaluado, según los autores, en 5×10^5 ó 5×10^6 gérmenes por gramo. En general, cuanto mejor es el alimento como medio para multiplicarse, tanto más amplios son los intervalos correspondientes a la temperatura, al pH o a la a_w dentro de los cuales puede tener lugar su multiplicación (Mossel, 1985; Frazier, 1993).

Cuando un alimento es contaminado es preciso que sea conservado un tiempo bastante prolongado a una temperatura que permita el crecimiento microbiano. Cuanto más baja sea la temperatura durante la multiplicación, tanto más tiempo tardará en producirse la suficiente cantidad de enterotoxina que origine la intoxicación. Existe mayor probabilidad de que los estafilococos produzcan enterotoxina cuando no existen microorganismos competitivos, cuando estos son pocos, o cuando por alguna razón están inhibidos (Frazier, 1993).

Las enterotoxinas son estables en un amplio rango de pH, más a pHs elevados (10 – 11) que a bajos (2 – 4). Resisten la acción de enzimas proteolíticos, como la tripsina, quimotripsina, renina, papaína y pepsina.

En la tabla 10 se observa como influyen algunos factores en el crecimiento y toxinogénesis de *S. aureus*.

Tabla 10. Algunos factores que influyen en el crecimiento y toxinogénesis de *S. aureus*.

<u>Factor</u>	<u>Crecimiento</u>	<u>Producción enterotoxinas</u>
Temperatura (rango)	6 - 46°C	10 - 45°C
Temperatura óptima	37°C	40°C
pH (rango)	4 - 9,8°C	5 - 8
pH óptimo	6 - 7°C	6,5 - 7 estable
NaCl	0 - 20%	0 - 10%
NaCl óptimo	0%	0%
a _w	0,83 - >0,99	0,86 - >0,99
a _w óptima	>0,99	>0,99

Fuente: Bourgeois, 1994.

Una propiedad importante de las enterotoxinas es su termoestabilidad. Así, persiste una actividad tóxica (o serológica) incluso tras un tratamiento del tipo esterilización (15 minutos, 121°C), siendo la enterotoxina de tipo B la más termorresistente.

b) ENZIMAS ESTAFILOCÓCICAS

COAGULASA

Las cepas de *S. aureus* poseen dos formas de coagulasa: de unión y libre. La coagulasa unida a la pared celular estafilocócica puede convertir directamente el fibrinógeno en fibrina insoluble y hacer que los estafilococos formen grumos. La libre obtiene los mismos resultados mediante reacción con un factor plasmático globulínico para formar un factor similar a la trombina.

Parece ser que la enzima puede provocar formación de una capa de fibrina alrededor del absceso estafilocócico, lo que localiza la infección y protege al microorganismo frente a la fagocitosis (Murray, 1997).

CATALASA

Enzima protectora que cataliza la conversión del peróxido de hidrógeno tóxico. Esta sustancia se acumula durante el metabolismo bacteriano o es liberada después de la fagocitosis, para convertirse en agua y oxígeno.

HIALURONIDASA

Esta enzima hidroliza los ácidos hialurónicos o mucopolisacáridos ácidos presentes en la matriz acelular del tejido conectivo. Facilita la diseminación de *S. aureus* en los tejidos.

ESTAFILOCINASA

Esta enzima puede disolver los coágulos de fibrina.

LIPASA

Esta enzima hidroliza los lípidos, lo que resulta esencial para la supervivencia de los estafilococos en las áreas sebáceas del cuerpo. Se cree que estas enzimas son necesarias por la invasión de los tejidos cutáneos y subcutáneos y la formación de infecciones cutáneas superficiales.

DESOXIRRIBONUCLEASA

La desoxirribonucleasa es una poderosa enzima elaborada por las cepas patógenas de *S. aureus*. Se caracteriza por depolimerizar el ADN y por su termorresistencia, razón por la que se denomina termonucleasa.

El pH óptimo para la elaboración de la DNasa es 8.3. Parece existir una correlación entre producción de DNasa y formación de coagulasa, aunque recientemente se ha demostrado la presencia de termonucleasa en cepas *S. aureus* coagulasa negativas (Murray, 1997).

II.2.5.5.3. EPIDEMIOLOGÍA Y CLÍNICA

Tres son los eslabones de la cadena epidemiológica, que interesa identificar ante un brote de toxiinfección alimentaria:

1. Los reservorios
2. Los alimentos implicados
3. Las personas afectadas

Los estafilococos son bacterias bastante ubicuas. Son principalmente parásitos y saprófitos del hombre y los animales (piel y mucosas). La piel del hombre es una fuente de *S. aureus* y, sobre todo, si existen procesos cutáneos (acné, forúnculos, heridas infectadas, etc.).

Las fosas nasales constituyen el reservorio principal del microorganismo. En el hombre la localización nasal afecta al 20 – 50% de los individuos. El microorganismo se disemina a partir de la nariz a la piel, manos y cara en particular y al ambiente, aire, suelo, agua, ropa, etc.

Los alimentos más frecuentemente comprometidos en esta intoxicación son en nuestro país los derivados lácteos, la carne y sus subproductos, y los artículos de bollería. Asimismo se ha descrito con frecuencia variable intoxicaciones vehiculizadas por pastas alimenticias y huevos cocidos.

La fuente más frecuente de *S. aureus* es la mamitis bovina, que quedaría controlada al higienizar la leche, pero posteriores contaminaciones de distinto origen (manipulación) encontrarían grandes facilidades para su desarrollo al no existir flora competidora. Por ello es posible encontrar enterotoxina en leche en polvo, leche condensada, mantequilla, cremas y quesos frescos, siendo excepcional su presencia en derivados fermentados como el yogur o cremas ácidas, debido al pH (Murray, 1997).

Niveles mayores a 10^6 microorganismos/gr pueden causar enfermedad y muchos laboratorios han confirmado la producción de la enterotoxina cuando se

exceden de estos valores. Con una pasteurización se mata al microorganismo pero al ser la toxina termoestable no, por lo que, valores menores a 10^6 microorganismos/gr en los alimentos pueden ser dañinos (Notermans, 1992).

La pasteurización de la leche destruye sólo el 30% de la enterotoxina A y B, mientras que el método UHT disminuye al 4% una concentración de 0,5-0,05 $\mu\text{g/ml}$ de enterotoxina A y al 10% una concentración de 0,05 $\mu\text{g/ml}$ de enterotoxina D. El secado por atomización de la leche en polvo no inactiva las enterotoxinas A y B (Davis, 1996).

Si un alimento ha sido contaminado, un tratamiento térmico del tipo pasteurización baja (60°C, 30 minutos) permitirá destruir los microorganismos, las células vegetativas no sobrevivirían a tales condiciones. Sin embargo, el alimento seguirá siendo muy peligroso por la presencia eventual de la enterotoxina estafilocócica, ya que cada toxina consiste en una cadena polipeptídica simple resistente a numerosos enzimas proteolíticos y capaz de soportar más de 30 minutos de hervido. Los microorganismos que originaron la toxina han ido descendiendo en número, incluso desapareciendo, mientras que la toxina, por su mayor resistencia, permanece en el alimento.

Dicha estabilidad varía en función de algunos parámetros (serotipo, concentración, grado de pureza, naturaleza del medio). Cuanto más grande sea la cantidad de toxina en el alimento mayor debe ser el tratamiento de inactivación. Aunque los valores de reducción decimal dependen del tipo de toxina y son del orden de 1 - 3 a 100°C y de 10 - 40 minutos a 120°C, en la práctica, ni los tratamientos de pasteurización alta (72°C durante 15 segundos) ni el calentamiento a temperaturas muy elevadas (143°C durante 9 segundos) ni los procesos culinarios normales serían suficientes para inactivar las enterotoxinas (Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).

Las carnes también pueden vehiculizar estafilococos enterotoxigénicos si su procedencia es próxima a alguna lesión estafilocócica, pero es más frecuente que se encuentren involucrados derivados cárnicos, como salchichas, salami, bacon, etc.

La intoxicación alimentaria estafilocócica se debe a la ingestión de alimentos contaminados con toxina y no directamente a los microorganismos. Es el resultado de la contaminación de alimentos por un portador humano. Aunque resulta posible evitar la contaminación si se excluyen de la preparación de alimentos a los individuos con una infección cutánea obvia por estafilococos, aproximadamente la mitad de los portadores permanecen asintomáticos, y el lugar colonizado con más frecuencia es la nasofaringe.

Después de la ingestión del alimento, el comienzo de la enfermedad es brusco y rápido, con un período de incubación medio de cuatro horas, con vómitos severos, diarrea y dolor abdominal o náuseas. Son posibles la cefalea y la sudoración, pero no se observa fiebre alta. La diarrea es acuosa y sin sangre, y existe riesgo de deshidratación por pérdida significativa de líquidos (Murray, 1997).

Los síntomas desaparecen en general tras 24 ó 48 horas. Se trata de una enfermedad corta, pero dolorosa y espectacular. Puede alcanzar cotas dramáticas cuando afecta a una colectividad. Debido a la precocidad con que aparecen los síntomas, muy a menudo los enfermos permanecen todavía en el lugar donde han ingerido los alimentos tóxicos (banquetes, bodas, escuelas, comedores colectivos) (Mossel, 1985; Eley, 1992; Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).

Hay que tener en cuenta que si se ha consumido arroz puede sospecharse también de una intoxicación por *Bacillus cereus*, ya que la toxina emética de éste produce los mismos efectos que las enterotoxinas estafilocócicas.

Por lo general, no se administra tratamiento alguno, a no ser que se trate de casos graves, en cuyo caso se administra solución salina vía parenteral (Frazier, 1993).

II.2.5.5.4. DIAGNÓSTICO

La identificación de *S. aureus* se sospecha por la morfología de la colonia, la producción de pigmento, hemólisis, fermentación del manitol y crecimiento de los organismos en un medio con elevada concentración de sal; pero estas propiedades son variables, mientras que una prueba de la coagulasa positiva certifica el diagnóstico (Davis, 1996).

En un estudio realizado por Soto y colaboradores utilizando los medios de agar-Baird-Parker, agar-sal manitol, agar-Vogel-Johnson y el medio de Giolitti-Cantoni llegaron a la conclusión de que con este último medio se obtenían recuentos muy inferiores a los alcanzados en los otros tres medios sólidos. El agar-sal manitol fue el más eficaz en cuanto al número de estafilococos hallados y grado de selectividad del medio. Ninguno fue selectivo para el aislamiento y detección de la especie *S. aureus* (Soto, 1991).

La prueba de la coagulasa se lleva a cabo añadiendo un asa de una colonia aislada en placa de agar o 0,1 ml de un cultivo en caldo, a 0,5 ml de plasma de conejo citratado e incubando la mezcla a 37°C. La mayoría de las cepas positivas provocan la formación de un coágulo dentro de las primeras 4 horas y muchas incluso en 1 hora, pero la prueba debe observarse a las 24 horas antes de ser considerada negativa (Murray, 1997).

El diagnóstico de la intoxicación se establece después de la observación de los síntomas del enfermo y del diagnóstico laboratorial. Se tiene en cuenta los siguientes criterios de laboratorio y/o epidemiológicos (Frazier, 1993; Bourgeois, 1994):

- Recuento de más de 10^5 UFC/g en los alimentos epidemiológicamente implicados.
- Comprobación de que éstos producen enterotoxina, o del aislamiento y detección de la enterotoxina.
- Presencia de enterotoxinas estafilocócicas en el alimento sospechoso o en los vómitos de los enfermos.

- Presencia de *S. aureus* del mismo lisotipo en las deposiciones y en los vómitos de varios enfermos, así como en los alimentos implicados y en la piel o en las fosas nasales de los manipuladores.

La presencia de enterotoxinas en alimentos sospechosos se demuestra por técnicas inmunológicas como la difusión en gel. El método de inmunodifusión en agar, en porta o en placa de petri, es el más utilizado para detectar las enterotoxinas a partir de un sobrenadante del cultivo, aunque su límite de detección (100 ng/ml o 5 ng/g de alimento) es normalmente insuficiente para poder detectar las enterotoxinas a partir de un alimento. Las enterotoxinas a menudo están presentes en dosis muy pequeñas en los alimentos (1 y 10 ng/g). Su extracción debe hacerse entonces a partir de una muestra muy grande (100 g) (Bourgeois, 1994).

Los métodos radioinmunológicos y enzimoimmunológicos, y la aglutinación pasiva inversa tienen un límite de detección (1 ng/g) suficiente para detectar las enterotoxinas después de una extracción simple a partir de 10 g de alimento. Sin embargo, estos métodos pueden dar lugar a interpretaciones difíciles, debido a reacciones inespecíficas relacionadas con el alimento donde las toxinas están presentes a baja concentración. Hay kits en el mercado que permiten la detección de las cuatro principales enterotoxinas A, B, C y D por enzimo-inmunología o por aglutinación pasiva inversa en burbujas de látex (Bourgeois, 1994; Hernández, 1999).

II.2.5.5.5. CONDICIONES NECESARIAS PARA QUE SE PRODUZCA UN BROTE

Para que se presente un brote de intoxicación alimentaria estafilocócica se requieren las siguientes condiciones:

1. Una fuente de una cepa de *S. aureus* enterotoxigénica, situada en el ambiente inmediato del alimento durante su elaboración o su almacenamiento (Fernández-Crehuet, 1991).

2. El microorganismo debe ser transferido desde esta fuente al alimento (Fernández-Crehuet, 1991).
3. Un alimento que sea favorable al crecimiento y toxinogénesis: rico en proteínas, de un pH próximo a la neutralidad, sin flora inhibidora, etc (Fernández-Crehuet, 1991).
4. Una temperatura favorable para el crecimiento y la producción de toxina (Fernández-Crehuet, 1991).
5. Una ingestión de toxinas en cantidad suficiente para desencadenar la enfermedad: aproximadamente 1 µg de enterotoxina desencadena el cuadro clínico entre los individuos susceptibles (25-50% de la población).

II.2.5.5.6. MEDIDAS PREVENTIVAS

Las medidas para evitar la presentación de brotes de intoxicación alimentaria por estafilococos incluyen:

1. Evitar la contaminación de los alimentos con estafilococos, teniendo en cuenta las normas generales de higiene (Frazier, 1993).
2. La contaminación de los alimentos por estafilococos de origen humano puede hacerse disminuir si mantenemos alejadas, de la preparación de alimentos, a las personas que padezcan infecciones estafilocócicas bajo la forma de resfriados, forúnculos, etc (Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).
3. La contaminación por estafilococos de origen animal puede reducirse mediante el control de las mamitis bovinas y evitando las contaminaciones cruzadas entre piel y canales en los mataderos, o entre los alimentos crudos y los cocinados (Bourgeois, 1994).
4. Impedir la multiplicación de los estafilococos respetando la cadena del frío. Manteniendo los alimentos por debajo de 3°C (Eley, 1992).
5. Conseguir unos valores de pH en los alimentos inferiores a 5 o superiores a 9, y una actividad de agua inferior a 0.83, para evitar la producción de la enterotoxina (Hernández, 1999).

6. Destrucción de los microorganismos por el calor antes de que lleguen a multiplicarse (pasteurización, cocción) (Frazier, 1993).
7. Cocinar los alimentos y consumirlos rápidamente tras la manipulación, para prevenir el crecimiento de bacterias contaminantes o refrigerarlo inmediatamente hasta que se consuma (Eley, 1992).
8. Reducir las manipulaciones, mantener la limpieza y las buenas prácticas de los manipuladores (Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).
9. Los controles bacteriológicos efectuados de forma regular permiten vigilar el nivel de contaminación y prevenir accidentes (Bourgeois, 1994).

II.2.5.6. ENTEROCOCCUS

Los enterococos se clasificaban antes como estreptococos grupo D, debido a que poseen el antígeno de la pared celular de ese grupo (ácido glicerol teicoico asociado con la membrana citoplasmática). Los grupos enterocócicos y no enterocócicos (estreptococos grupo D) se diferenciaban al principio por sus propiedades fisiológicas, y más recientemente mediante estudios de hibridación ADN-ADN. En la actualidad se conocen doce especies de enterococos, aunque las que causan infecciones humanas con más frecuencia son *E. faecalis* y *E. faecium* (Murray, 1997).

II.2.5.6.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

Son cocos grampositivos que se agrupan en cadenas o en parejas, microaerófilos o anaerobios facultativos, inmóviles, no esporulados y catalasa negativos. Tienen el antígeno glucídico D de Lancefield. Sin embargo, este carácter no es absoluto, ya que numerosas especies no reaccionan al anti suero- D (Flahaut, 1997).

Abundan en las materias fecales del hombre y de los animales, utilizándose a veces como microorganismos indicadores de contaminación fecal de los alimentos y, con mayor frecuencia, para determinar las condiciones de limpieza de una determinada planta industrial. También son capaces de sobrevivir en los distintos productos lácteos, pudiendo contaminar los utensilios y el equipo. Por consiguiente, los enterococos son considerados “organismos índice” (Mossel, 1985; Frazier, 1993).

Los enterococos poseen un cierto número de propiedades comunes establecidas a partir de dos modelos, *E. faecalis* y *E. faecium*.

Se encuentra un pequeño número de *E. faecalis* en el tracto respiratorio alto y el intestino delgado, mientras que la cantidad es mucho mayor (10^7 /gramo de heces) en el intestino grueso. *E. faecium* tiene una distribución similar, aunque se halla con menos frecuencia (Murray, 1997).

E. faecalis tiene tres propiedades remarcables que se engloban debajo de tres aspectos: carácter ubicuario, bacteria indicadora de contaminación de origen fecal y germen oportunista.

Tres son las ventajas para recomendar la puesta en evidencia de los enterococos como indicadores de contaminación de las aguas:

1. Ellos no se multiplican en el agua
2. Ellos son menos numerosos que los coliformes en las heces humanas
3. Sobreviven en general más tiempo en el agua que los coliformes

Los enterococos están especialmente adaptados para la supervivencia. Son capaces de crecer en presencia de concentraciones altas de bilis y cloruro sódico, lo que resulta necesario para su persistencia en el intestino y la vesícula biliar.

Proliferan con facilidad en medios de agar sangre y producen colonias blancas grandes tras 24 horas de incubación.

Las bacterias de este grupo crecen en un amplio intervalo de temperatura, son capaces de crecer tanto a 10° C como a 45° C. Algunas se multiplican a temperaturas bajas como son las comprendidas entre 5 y 8° C, pero la mayoría lo hacen a temperaturas tan elevadas como son las comprendidas entre 48 y 50° C. Sobreviven a 60°C durante 30 minutos.

Son muy resistentes a condiciones adversas (congelación, desecación, tratamiento térmico). Son capaces de crecer a un pH básico de valor 9,6 y toleran concentraciones de sal del 6,5% o más elevadas. Esta característica no es exclusiva de los enterococos sino también de los lactococos, pediococos, aerococos, leuconostos y estafilococos.

La utilización de la esculina o la degradación de la arginina nos ayudan al diagnóstico de los enterococos. En el *Traité de microbiologie*, Nattan-Larrier (1934) proponía un medio de enriquecimiento asociado a la resistencia del *E. faecalis*, el

crecimiento en el agua de peptona fenicada (0.3% de ácido fénico) a 42° C; este doble carácter fenotípico exclusivo no queda retenido para lo siguiente.

La utilización de azúcares es otro criterio fenotípico participante en la identificación de los enterococos. La acidificación del medio en presencia de glucógeno es habitualmente negativo para los enterococos y positivo para la mayoría de los estreptococos. Inversamente, el catabolismo de la L-arabinosa puede ser realizado por numerosas especies de enterococos pero no existe en el caso de los estreptococos (Flahaut, 1997).

El catabolismo de un largo espectro de hidratos de carbono conduce a la formación preferente del ácido láctico L(+), a un pH final de 4.2-4.6 en medio glucosado, sin producción de gas.

Los enterococos poseen un sistema enzimático capaz de reaccionar con el oxígeno. Este es el caso de la NADH oxidasa y de la glicerofosfato oxidasa presentes en el *E. faecalis* y *E. faecium*.

II.2.5.6.2. PATOGENIA E INMUNIDAD

Los enterococos son unos de las primeras causas de infecciones nosocomiales. *E. faecalis* está asociado a infecciones de las heridas y del tracto urinario, a abscesos intra-abdominales y a endocarditis. Ya que los enterococos son resistentes a la mayoría de los antibióticos, la introducción de nuevos agentes de amplio espectro les han permitido proliferar y causar superinfecciones graves, especialmente en pacientes inmunocomprometidos.

El tratamiento antimicrobiano para las infecciones enterocócicas es complicado. La terapia ha consistido de modo tradicional en combinaciones sinérgicas de un aminoglucósido y un antibiótico activo contra la pared celular (penicilina, ampicilina). Sin embargo, se ha descrito resistencia a los

aminoglucósidos. Estas cepas plantean problemas particulares, puesto que la resistencia está mediada por plásmidos y puede ser transferida a otras bacterias.

II.2.5.6.3. EPIDEMIOLOGÍA Y CLÍNICA

Los alimentos de origen animal y vegetal obtenidos por fermentación microbiana contienen frecuentemente números considerables de enterococos, que forman parte de su asociación microbiana natural (Mossel, 1985).

Los alimentos pueden contener enterococos procedentes de una contaminación fecal directa o indirecta. En los productos semiconservados, procesados y tratados por el calor, no estériles, los enterococos, junto con los gérmenes esporulados, son con frecuencia los únicos organismos sobrevivientes (ICMSF).

Los enterococos suelen ser de los mejores indicadores de contaminación en los alimentos conservados al frío (Flahaut, 1997).

Frecuentemente se han encontrado enterococos en gran número en alimentos que no produjeron ningún tipo de intoxicación, por ello no se reconoce de modo general la capacidad de los enterococos de producir intoxicaciones alimentarias (ICMSF).

El *E. faecalis* participa en la maduración de los quesos. Esta propiedad no sería sólo evidencia de su capacidad de degradar las caseínas sino también a la estimulación que ejerce sobre el crecimiento de los lactobacilos y de otras bacterias lácticas naturalmente presentes en esos medios. Así pues es considerado como un microorganismo del aroma.

Los alimentos implicados en número limitado de brotes eran la carne de vaca procedente de canales asadas enteras, las croquetas de carne de vaca, las salchichas de Viena, la boloñesa de jamón, la salsa de pavo, el queso albanés y otros tipos de

queso; productos lácteos, leche evaporada, huevos, y en general, los alimentos crudos como las ensaladas (Eley, 1992; Frazier, 1993).

Enterococcus faecalis es capaz de crecer en el bacon y distintos productos lácteos (Eley, 1992; Frazier, 1993).

Algunos estreptococos del grupo D cuando están presentes en los alimentos en cifras superiores a 10^6 células viables /gr, tienen poder irritativo a nivel de la mucosa gastrointestinal (Bourgeois, 1994).

El período de incubación es corto, tiene una duración de 2 a 18 horas, variando entre unas pocas horas y dos días. Se le considera la causa de la gastroenteritis, y los síntomas consisten en diarrea como rasgo más prominente, las náuseas y vómitos son menos frecuentes. La recuperación suele ser rápida, a menudo dentro de las 24 horas desde el comienzo de los síntomas. (Eley, 1992; Frazier, 1993).

En pacientes ancianos e inmunocomprometidos, la intensa diarrea y la hipotensión pueden resultar fatales, y en estos casos deberían administrarse antibióticos junto con otras formas de terapia (Eley, 1992).

II.2.5.6.4. MEDIDAS PREVENTIVAS

Como *E. faecalis* se halla presente en el tracto intestinal, los factores a tener en cuenta en la prevención de esta infección son los siguientes:

1. Higiene personal de los manipuladores de alimentos (Eley, 1992).
2. Cocinar los alimentos a temperaturas suficientemente altas, y después enfriarlos rápidamente (Eley, 1992).
3. Conservar los alimentos bajo una refrigeración adecuada (3°C) (Eley, 1992).
4. Excluir a los manipuladores de alimentos que muestren lesiones en la piel o presenten afecciones respiratorias clásicas como faringitis (Eley, 1992).

II.2.5.7. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

II.2.5.7.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

Bacilo grampositivo rectangular grande; las esporas se observan rara vez *in vivo* o tras un cultivo *in vitro*. Es uno de los pocos clostridios no móviles. Crece con rapidez tanto en los tejidos como en cultivo, tiene carácter hemolítico y posee gran actividad metabólica, lo que facilita su identificación rápida en el laboratorio (Murray, 1997).

Reduce nitratos a nitritos, produce sulfhídrico, fermenta muy rápidamente la lactosa (con producción de ácido y gas), glucosa, galactosa, fructosa, maltosa, manitol, inositol y sacarosa, y produce lecitinasa.

Durante el metabolismo de *Clostridium perfringens* los principales ácidos grasos que se producen son el acético, el butírico y el caproico.

Clostridium perfringens es un microorganismo termófilo que se desarrolla en un rango bastante amplio de temperaturas, para la mayoría de las cepas entre 15 y 50°C.

La temperatura óptima de crecimiento de las cepas del tipo A, D y E es de 43°C a 47°C, donde se presenta un tiempo de generación (tiempo requerido para duplicar el número de bacterias) de 12 minutos. A 15 - 20°C su crecimiento es limitado. Su temperatura máxima de crecimiento es de unos 55°C (Eley, 1992; Frazier, 1993).

Los esporos de *C. perfringens* tipo A muestran una termorresistencia variable y no uniforme.

Puede cultivarse en un amplio rango de pH (de 5.5 a 8.0). No crece a valores de pH por debajo de 5.0 o por encima de 9 (Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).

La actividad de agua (a_w) mínima que permite el crecimiento de *Clostridium perfringens* es de alrededor de 0.94, lo que corresponde a una disolución salina de un 10 – 11%. Parece que los solutos iónicos (KCl, NaCl...) son más inhibidores que los no iónicos (glucosa, glicerol). Es inhibido por una concentración de NaCl del 5%, algunas cepas son inhibidas por una concentración de nitrato sódico del 2,5%. Se ha demostrado que el nitrato de sodio junto con el cloruro sódico es muy eficaz para prevenir el crecimiento de *Clostridium perfringens*, como ocurre con el *C. botulinum* (Bourgeois, 1994).

La producción de cuatro toxinas letales importantes (alfa, beta, épsilon e iota) se emplea para subdividir los aislamientos en cinco tipos (A-E).

II.2.5.7.2. PATOGENIA

Clostridium perfringens puede causar un amplio espectro de enfermedades, desde gastroenteritis autolimitada hasta destrucción tisular sobreaguda con mortalidad muy alta a pesar de la intervención adecuada y precoz. Este potencial patogénico se atribuye a las numerosas toxinas y enzimas producidas por el microorganismo (Murray, 1997).

a) TOXINAS

La **toxina alfa (a)**, la más importante producida por todos los aislamientos de *C. perfringens*, es una lecitinasa (fosfolipasa C) que provoca lisis de hematíes, plaquetas, leucocitos y células endoteliales. Esta toxina se asocia con un aumento de permeabilidad vascular con hemólisis masiva y hemorragia, destrucción tisular, toxicidad hepática y disfunción miocárdica. *C. perfringens* tipo A es el que produce mayores cantidades de toxina alfa, responsables de la gangrena gaseosa, de la colitis necrotizante, de la septicemia y de la intoxicación alimentaria (ICMSF, 1996; Murray, 1997).

La **toxina beta (β)** es responsable de las lesiones necróticas en la enterocolitis necrotizante.

La **toxina épsilon (ε)** es una protoxina activada por enzimas proteolíticas que aumenta la permeabilidad vascular de la pared gastrointestinal.

La **toxina iota (ι)** tiene actividad necrótica y aumenta también la permeabilidad vascular.

La **enterotoxina** es una proteína termolábil producida en el colon y liberada durante la formación de esporas. El tratamiento con tripsina aumenta tres veces su actividad. La toxina es producida sobre todo por las cepas tipo A, pero también por algunas de los tipos C y D. Altera el transporte de iones en el íleon (sobre todo) y en el yeyuno, mediante inserción en la membrana celular y alteración de la permeabilidad de esa membrana. Se requiere ingestión de gran número de células vegetativas con alimentos contaminados para producir efectos enterotóxicos (Murray, 1997).

Su toxicidad disminuye 10 veces después del calentamiento a 60°C durante 4 minutos.

Mecanismo de acción de la enterotoxina

En los enterocitos, la enterotoxina se fija específicamente a una proteína de peso molecular de 50.000 da. Esta unión es imprescindible para que la toxina ponga en marcha su actividad biológica, se supone que la fracción hidrófila de la molécula serviría para la fijación específica y la zona hidrófoba penetrando en el interior, sería la responsable de los efectos biológicos. Las alteraciones morfológicas provocadas por la enterotoxina son moderadas. Hay una erosión del borde de las células intestinales, pero nunca hay una degradación importante. Se ha observado que produce pérdidas de agua, de sodio y de cloro y la absorción de glucosa y el metabolismo oxidativo se inhiben.

II.2.5.7.3. EPIDEMIOLOGÍA

C. perfringens es un habitante común del tracto intestinal del hombre y de los animales y se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, sobre todo en el suelo y agua contaminados con heces. Estos microorganismos forman esporas en condiciones ambientales adversas, y pueden sobrevivir durante largo tiempo.

La mayoría de los aislamientos procedentes del medio ambiente pertenecen al tipo A. Las cepas de los tipos B-E no sobreviven en el suelo, pero colonizan el tracto intestinal de los animales y en ocasiones el de los hombres. La grangena gaseosa y la intoxicación alimentaria están causadas sobre todo por *C. perfringens* tipo A, mientras que la enteritis necrotizante se debe al tipo C (Murray, 1997).

Por tratarse de un germen ubicuo, los esporos de *C. perfringens* se encuentran frecuentemente en casi todos los alimentos. Sin embargo, su carácter anaeróbico estricto limita la posibilidad de desarrollo de este microorganismo en los alimentos. Así, las conservas y los alimentos cocidos que han recibido un tratamiento térmico importante, e incluso protegidos en muchos casos frente a una posible contaminación posterior al calentamiento constituyen excelentes medios de cultivo para *C. perfringens*.

Al cocinar los alimentos, particularmente si se trata de grandes piezas, el calentamiento de las masas internas es lento, así como el enfriamiento posterior. La cocción de los alimentos destruirá las células vegetativas y las esporas de algunas cepas, pero el calor determina la eliminación del oxígeno disuelto, por lo que se crean condiciones de anaerobiosis, induciendo la esporulación de las bacterias. Los esporos expuestos al shock térmico son activados y germinan. Si el enfriamiento no se realiza convenientemente y la temperatura desciende por debajo de 50° C, se favorece la multiplicación de las células vegetativas. Las esporas presentes en la carne cruda resisten cocciones de tipo "fuego lento" de 3 ó 4 horas o aún cocciones a 110°C durante 30 minutos. Las formas vegetativas se multiplican rápidamente, con un intervalo de generación que puede ser tan corto como 10-12 min. Si, una vez iniciada la germinación, el alimento no se somete a conservación adecuada y

transcurre tiempo suficiente para que la proliferación bacteriana alcance concentraciones superiores a 10^5 microorganismos por gramo, se producirá el cuadro clínico en las personas que lo ingieran sin ebullición previa.

Las intoxicaciones por *C. perfringens* son frecuentes cuando se preparan cantidades grandes de alimentos (bodas, banquetes, restaurantes colectivos y privados, etc.).

Los alimentos implicados son, fundamentalmente, carne de mamíferos y de aves fría o recalentada, empanadas, salsas, pasta de pescado, pollo frío, etc., y, de modo muy especial, los platos precocinados y las carnes asadas en grandes cantidades.

II.2.5.7.4. CLINICA

La enterotoxina daña las células epiteliales del extremo distal de las vellosidades intestinales e inhibe la absorción de la glucosa, que induce a la secreción y acúmulo de líquido, sodio y cloruros en el intestino. El resultado es un exceso de fluido en el interior del intestino, lo que provoca la aparición de diarrea.

La intoxicación alimentaria por clostridios se caracteriza por un período de incubación breve de 8 a 24 horas, cuadro clínico con retortijones y diarrea acuosa en ausencia de fiebre, náuseas o vómitos, y tiempo de evolución inferior a 24 horas. La enfermedad se debe a la ingestión de productos cárnicos contaminados con gran número, 10^8 - 10^9 microorganismos, de *C. perfringens* tipo A productor de enterotoxina (Murray, 1997).

La intoxicación alimentaria por clostridios no requiere tratamiento antibiótico.

La enteritis necrosante, es una enfermedad hemorrágica causada por la ingestión de alimentos contaminados por *Clostridium perfringens* tipo C. El microorganismo se adhiere a las células de la pared intestinal y produce una toxina

necrotizante β que causa la necrosis de la mucosa. Si no es tratada, la enfermedad progresa hasta gangrenar porciones del intestino delgado, con shock y toxemia severa. También se ha registrado enteritis necrosante asociadas a *C. perfringens* de otros tipos (A y D).

En los casos de enteritis necrosante, el alimento implicado generalmente es la carne de cerdo.

II.2.5.7.5. DIAGNÓSTICO

El hallazgo microscópico de bacilos grampositivos en muestras clínicas, de modo habitual en ausencia de leucocitos, puede ser muy útil, puesto que estos microorganismos presentan una morfología característica.

El cultivo de los anaerobios es también relativamente simple, y la detección de *C. perfringens* se obtiene en medios comunes tras incubación durante un día o menos. En condiciones apropiadas, este bacilo se puede dividir cada ocho minutos, por lo que el crecimiento en medios de agar o en caldo para hemocultivo se puede detectar después de sólo unas horas de incubación.

El papel de *C. perfringens* en la intoxicación alimentaria se documenta mediante recuperación de más de 10^5 microorganismos por gramo de alimentos, o 10^6 por gramo de heces recogidas dentro del primer día después del comienzo de la enfermedad (Murray, 1997).

II.2.5.7.6. CONDICIONES PARA QUE SE PRODUZCA UN BROTE

Para que se presente un brote de infección gastrointestinal por *C. perfringens* son necesarias las siguientes condiciones:

1. Que el alimento contenga *C. perfringens* o esté contaminado con este microorganismo (Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).
2. Condiciones de preparación y conservación de los alimentos tales que el microorganismo pueda multiplicarse y alcanzar tasas suficientes para producir la infección, en cifras superiores a 10^5 UFC/g (Pascual A., 1992; Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).
3. Si los alimentos no son calentados rápida y uniformemente, los esporos pueden sobrevivir al proceso de cocinado y germinar cuando se alcance la temperatura adecuada durante el enfriamiento (Eley, 1992).
4. Que se trate de un alimento que no haya sido refrigerado convenientemente, de forma que el microorganismo se haya multiplicado abundantemente por existir en el alimento una temperatura favorable para ello y haber dejado transcurrir el suficiente tiempo para que se multiplique (Eley, 1992; Frazier, 1993).
5. Consumo del alimento sin haber recibido ningún tratamiento higienizante que hubiese limitado el número de microorganismos o la cantidad de toxinas presentes en el producto, ingiriéndose un elevado número de células bacterianas viables (Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).
6. Que las células bacterianas esporulen *in vivo* y elaboren la enterotoxina (Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).

II.2.5.7.7. MEDIDAS PREVENTIVAS

Clostridium perfringens, por su ubicuidad, es un contaminante relativamente frecuente en pequeño número. Por ello es preciso evitar que las condiciones en que se encuentran estos microorganismos potencialmente patógenos permitan su crecimiento. La composición del alimento (humedad, contenido en sales y azúcares que afectan a la actividad de agua del alimento, el pH, el potencial óxido-reducción, etc.) y la temperatura de conservación son los factores más importantes (Bourgeois, 1994).

De ahí que los recursos para prevenir la aparición de infecciones e intoxicaciones alimentarias por *Clostridium perfringens* comprendan:

1. Respetar estrictamente las técnicas correctas de sacrificio y manipulación de las canales de los animales, evitando que se contaminen con heces del propio animal y esporas del microorganismo (Bourgeois, 1994).
2. Extremar la limpieza en los locales donde se almacenen o manipulen alimentos, ya que se levanta polvo que transporta las esporas (Eley, 1992).
3. Conocimiento adecuado, por parte de los manipuladores, de las técnicas de preparación y conservación de alimentos (Eley, 1992).
4. Mantenimiento de los alimentos calientes a temperaturas superiores a los 60°C (Bourgeois, 1994).
5. Recalentamiento completo de los alimentos refrigerados (Eley, 1992; Frazier, 1993).
6. Enfriamiento rápido de los alimentos y posterior conservación en refrigeración (Mossel, 1985; Eley, 1992; Frazier, 1993).
7. Manipulación adecuada de los productos para evitar la contaminación a partir del ambiente o a partir de los manipuladores (contaminación secundaria) (Bourgeois, 1994).
8. Adecuada higiene personal (Bourgeois, 1994).

Por esta razón, la legislación francesa obliga a que los platos cocinados con antelación se mantengan a temperaturas superiores a los 65°C, hasta que se sirvan en la mesa o inferiores a 3° C (el enfriamiento hasta los 10° C debe alcanzarse en menos de dos horas), si se almacenan un tiempo antes de su distribución o de que lleguen al consumidor. El recalentamiento de los platos conservados a refrigeración o a congelación debe hacerse también de forma rápida (debe alcanzarse los 65°C en menos de una hora). Con ello se pretende evitar un almacenamiento largo de los alimentos a temperaturas peligrosas, susceptibles de permitir la multiplicación de las bacterias (Bourgeois, 1994).

II.2.5.8. CLOSTRIDIUM BOTULINUM

II.2.5.8.1. CARACTERISTICAS GENERALES

C. botulinum es una bacteria del suelo, de forma bacilar, grampositiva, formadora de endosporas, anaerobia estricta y productora de gas. Género representante de la familia *Bacillaceae*.

Este microorganismo puede crecer a bajas temperaturas, produciendo toxinas en condiciones adversas, algunas cepas pueden crecer a 40°C (Eley, 1992; Frazier, 1993).

C. botulinum puede esporular tanto en los medios de cultivo como en la naturaleza (agua, suelo) o en los alimentos. Sus esporas están dotadas de una termorresistencia relativamente elevada y, por tanto, capaces de sobrevivir a un tratamiento térmico insuficiente. La termorresistencia de los esporos depende del medio de producción, de la temperatura de esporulación y de la a_w (Bourgeois, 1994).

La intensidad del tratamiento térmico necesaria para destruir todas las esporas en un determinado alimento depende de la clase de alimento, del tipo y de la cepa de *C. botulinum*, del medio en el cual se originaron, de la edad de las mismas, y del número de esporas existentes (Eley, 1992).

Los esporos de *C. botulinum* tienen igualmente una gran resistencia a las radiaciones (rayos X, UV, etc.) y a diversos agentes bactericidas (cloro, hipoclorito, óxido de etileno, alcohol, formaldehído, amonio cuaternario) (Bourgeois, 1994).

La multiplicación de *C. botulinum* se estimula a pHs próximos a la neutralidad. Los valores mínimos para que se multiplica y produzca toxina dependerán del tipo de alimento y de la temperatura.

Se considera que por debajo de pH = 4,5 es imposible su crecimiento, de ahí el mayor riesgo de los alimentos de pH elevado (productos cárnicos) y menor de los de pH bajo (hortalizas, frutas). Sin embargo, se ha demostrado que ciertas cepas son capaces de desarrollarse por debajo de pH = 4,5 (pH = 4) (Mossel, 1985; Eley, 1992; Frazier, 1993; Bourgeois, 1994; Davis, 1996).

El cloruro sódico, dependiendo de la concentración, inhibe el crecimiento y la germinación de estos microorganismos, al tiempo que tiene una participación importante en la conservación de los alimentos. Niveles de sal de alrededor del 10% o del 50% de azúcar, inhiben el crecimiento de los tipos A y B (Bourgeois, 1994).

A temperaturas más elevadas, por ejemplo a 37°C, se necesita más sal que a una temperatura más baja, 15°C. Para inhibir la multiplicación de *C. botulinum* en un medio que reúna condiciones apropiadas para ello, es necesaria una concentración de sal del 8% o más (Frazier, 1993).

II.2.5.8.2. PATOGENIA

a) TOXINAS

De acuerdo con la especificidad serológica de sus toxinas se distinguen siete tipos que son los siguientes (Frazier, 1993; Mandell, 1997):

El **tipo A** es el único que suele producir el botulismo humano en la zona occidental de Estados Unidos. Es más tóxico que el tipo B.

El **tipo B** se encuentra con mayor frecuencia que el tipo A en la mayoría de los suelos de todo el mundo y es menos tóxico para el hombre.

El **tipo C** produce el botulismo de las aves, del ganado vacuno, del visón, y de otras especies animales, pero hasta ahora no se conocen casos en la especie humana. Este serotipo se subdivide en dos formas C₁ y C₂ (Fdez-Crehuet, 1991; Davis, 1996; Murray, 1997).

El **tipo D** se relaciona con la intoxicación por forraje del ganado vacuno en la Unión Sudafricana.

El **tipo E**, que es tóxico para el hombre, se ha aislado principalmente en el pescado y en los productos derivados del mismo.

El **tipo F**, que excepto por lo que se refiere a su toxina es parecido a los tipos A y B, se ha aislado en Dinamarca y produce el botulismo humano.

El **tipo G**, ha sido aislado del suelo en Argentina, pero no se ha relacionado con el botulismo humano.

Algunas cepas producen dos toxinas (A y B, A y F o B y E). Los tipos C y a veces el D de *Clostridium botulinum* producen la toxina C₂ que no es una neurotoxina, sino una toxina parecida a las enterotoxinas con una actividad ADP ribosilante (ICMSF, 1996).

La diferenciación de las distintas cepas de *C. botulinum*, basada únicamente en los tipos de toxina, y como no todos los tipos elaboran una sola toxina, da como resultado grupos muy heterogéneos. Por esta razón, basándose en:

- ◆ sus caracteres bioquímicos (capacidad proteolítica, lipolítica, glucidolítica),
- ◆ catabolitos que produce,
- ◆ fisiología (sensibilidad al oxígeno, bacteriófagos),
- ◆ composición en azúcares de sus paredes celulares y
- ◆ su ADN (hibridaciones ADN-ADN),

las cepas de *C. botulinum* pueden clasificarse en cuatro grupos (Frazier, 1993; Bourgeois, 1994; Mandell, 1997).

El **grupo I** incluye todas las cepas de tipo A (proteolíticas) y las cepas proteolíticas de los tipos B y F.

El **grupo II** incluye a todas las cepas del tipo E (no proteolíticas) y las cepas no proteolíticas de los tipos B y F.

El **grupo III** incluye los tipos C y D; son cepas no proteolíticas y comparten un patrón metabólico común.

El **grupo IV** incluye todas las cepas del tipo G, proteolíticas.

Los tipos C y D son algo más oxígeno-sensibles que los demás tipos. Estas bacterias tienen necesidades nutritivas complejas y su cultivo se realiza generalmente en medios también complejos (Mandell, 1997).

Las cepas proteolíticas se caracterizan por utilizar para su desarrollo una serie de proteínas con producción de hidrógeno sulfurado y por fermentar uno o dos carbohidratos.

Las cepas no proteolíticas no utilizan proteínas, aunque la mayoría digiere la gelatina lentamente y fermentan varios carbohidratos.

Los productos de la fermentación son ácido butírico y, en menor cantidad, ácido acético (Mandell, 1997).

b) TOXINOGENESIS

Las toxinas se producen durante el crecimiento de las bacterias en medios complejos. La producción de toxinas por *C. botulinum* depende de la capacidad de las células de este microorganismo para multiplicarse en un determinado alimento y de autolisarse en el mismo ya que, al parecer, las toxinas de los tipos A, B, E y F son sintetizadas como proteínas con una molécula de gran tamaño, que adquieren toda su toxicidad después de experimentar cierto grado de hidrólisis. Son liberadas rápidamente y, por tanto, se denominan corrientemente «exotoxinas». De aquí que tengan un especial interés los factores que influyen en la germinación de las esporas, en la multiplicación y, por consiguiente, en la producción de toxinas. Estos factores incluyen la composición del alimento o del medio, sobre todo por lo que se refiere a sus propiedades nutritivas (Frazier, 1993).

La temperatura es un factor importante para determinar si tendrá lugar la producción de toxina y cuál será la velocidad con que se producirá. El crecimiento vegetativo tendrá lugar a una temperatura más baja que la temperatura mínima de germinación de las esporas.

Las temperaturas óptima y mínima de crecimiento, toxinogénesis, así como las de esporulación y germinación se recogen en la tabla 11 (Bourgeois, 1994).

Tabla 11. Temperaturas de crecimiento, toxinogénesis, esporulación y germinación.

TEMPERATURA	TIPO	1	2	3	4
Óptima	A, B, C, D, F, G	35-37°C	35°C	15-41°C	37°C
Óptima	E	30°C	28-30°C	15-41°C	37°C
Mínima	A, B, C, D, F, G	15-20°C	15°C		>10°C
Mínima	E	3,3°C	5°C		>10°C

1: crecimiento; 2:toxinogénesis; 3:esporulación; 4:germinación.

Estos datos son importantes en microbiología de alimentos, indican la aptitud del tipo E para germinar, desarrollarse y producir toxina a bajas temperaturas, mientras que los demás tipos necesitan temperaturas más elevadas. Existen excepciones, como el caso de la cepa de tipo B cuya temperatura óptima de crecimiento y producción de toxina es de 12,5° C (Bourgeois, 1994).

La temperatura óptima para la producción de toxina y para la multiplicación de las cepas proteolíticas es de unos 35°C, mientras que para las cepas no proteolíticas se suelen dar valores correspondientes a las temperaturas óptimas comprendidos entre 26 y 28°C (ICMSF, 1996).

En general, las esporas del tipo A y B son más termorresistentes que las de los tipos C, D y E. Las del tipo E son las más sensibles. Después de un calentamiento, los esporos del tipo E permanecen viables, pero en letargo en ausencia de lisozima en el medio de germinación. Con el tipo A la adición de lisozima aumenta de forma notable la tasa de germinación de los esporos (Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).

La termorresistencia de una cepa cualquiera se evalúa determinando el **valor D**, que se define como el tiempo de reducción decimal de una suspensión de esporos

a una temperatura dada. Este parámetro varía en función del medio de cultivo, del medio de esporulación y del de germinación (Bourgeois, 1994).

Todas las toxinas botulínicas tienen una estructura similar. Forman agregados al asociarse con una hemoaglutinina (no tóxica) y otros polipéptidos (no tóxicos) que pueden protegerlas por su paso a través del estómago.

Las toxinas purificadas son polipéptidos de 150 kDa de peso molecular. Son sintetizadas por las bacterias bajo forma de dos subunidades H y L de 100 y 50 Kda de peso molecular respectivamente (Mandell, 1997).

Las subunidades se producen como resultado de la escisión de la cadena polipeptídica, debida a una enzima proteolítica producida por la propia bacteria o bajo la acción de la tripsina. Las cadenas H y L separadas son inactivas biológicamente (Bourgeois, 1994).

En el caso de la toxina B, la escisión espontánea siempre es incompleta. Las toxinas C₁ y C₂ se producen bajo la forma de dos subunidades. En la toxina E nunca hay escisión espontánea de la cadena.

Las subunidades pueden permanecer ligadas por un puente S-S (a excepción de la toxina C₂). Si se rompe dicho puente pueden separarse las dos subunidades, siendo atóxicas. Lo que demuestra que la toxicidad se debe a la acción conjunta de las dos subunidades ligadas.

Las siete toxinas son antigénicas, suscitando la producción de antitoxinas específicas para cada uno de los tipos de toxina inyectada.

Los niveles producidos en los medios de cultivo por las cepas más toxigénicas pueden alcanzar, expresadas en **DMM (dosis mínima mortal en ratón)**, las siguientes cifras por ml de cultivo: para las toxinas A, B, C, D, 10⁶; para las toxinas F, G y E (después de la activación tripsínica) 10⁴ y de 10³ para la toxina C₂ después de la activación (Bourgeois, 1994).

El pH mínimo al cual tendrán lugar la multiplicación y la producción de toxina dependen del tipo de alimento y de la temperatura. Un pH de 4,5 o de valores más bajos impedirá la producción de la toxina en la mayoría de los alimentos, si bien el pH mínimo para que tenga lugar la germinación de las esporas tiene valores más elevados (Frazier, 1993; Bourgeois, 1994; Davis, 1996; Murray, 1997).

Las concentraciones de cloruro sódico necesarias para inhibir la multiplicación del microorganismo y la producción de toxina en los alimentos dependen de la composición de cada uno de ellos y de la temperatura a que se encuentren. La presencia de nitrato sódico en los embutidos o de fosfato disódico en el queso en porciones reducen la concentración de cloruro sódico necesaria para que se produzca la toxina (Frazier, 1993).

El estaño disuelto de las latas inhibe la multiplicación del microorganismo y la producción de toxina en las hortalizas enlatadas.

En carnes deshidratadas, la toxina se produce más lentamente cuando el porcentaje de humedad es del 40% que cuando es del 60%, y si ésta se reduce al 30% se impide la producción de toxina (Frazier, 1993).

c) MECANISMO DE ACCIÓN

Estas toxinas son activadas por proteólisis. Tras inyección son captadas por el sistema linfático digestivo, pasan a la sangre, después se fijan a las uniones mioneurales de las fibras colinérgicas del sistema nervioso periférico, inhibiendo la liberación de acetilcolina, lo que causa parálisis muscular. Su efecto es mucho menor en las fibras de transmisión adrenérgica (Eley, 1992; Bourgeois, 1994; Davis, 1996; Murray, 1997; Mandell, 1997).

Las toxinas actúan en tres etapas sucesivas:

1. **Fijación de la toxina por medio del fragmento H a los receptores de membranas presinápticos.** Estos receptores podrían ser de dos tipos (gangliósidos y proteínas). Es una etapa que no requiere ni energía ni iones

Ca²⁺. Es parcialmente reversible administrando un suero antibotulínico específico.

2. **Translocación o internalización de la toxina en las vesículas de la neurona presináptica.** Es una etapa que requiere energía y que no es reversible. No se sabe como este polipéptido de peso molecular elevado se introduce, pero parece que está implicado un proceso de reorganización de la membrana nerviosa.
3. **Etapa lítica que se traduce por parálisis.** Afecta a la estructura membranal del citoplasma alrededor del espacio presináptico. El bloqueo de la exocitosis (liberación) de la AcCh(acetilcolina) se produce por un mecanismo molecular desconocido, podría tratarse de una reacción enzimática, cuya principal consecuencia es el bloqueo de la secreción de AcCh y, por tanto, de la excitación del músculo.

II.2.5.8.3. EPIDEMIOLOGÍA Y CLÍNICA

El *C. botulinum* es una especie bacteriana ampliamente distribuida en la naturaleza, generalmente en el suelo, ya que se han encontrado tanto en suelos cultivados como en suelos vírgenes de todo el mundo. Las plantas cultivadas se pueden contaminar a partir del suelo y a partir del contenido intestinal de los animales tras haber ingerido tales plantas y, por lo tanto, a partir del estiércol (Davis, 1996; Murray, 1997).

Sus esporos están presentes en polvo, suelo, lodos de mar y lagos, y en el pescado, principalmente en su tracto intestinal.

El botulismo es una enfermedad originada por la ingestión de alimentos que contienen la neurotoxina producida por *Clostridium botulinum*. Los alimentos se contaminan con esporas procedentes del medio ambiente, si luego experimentan un tratamiento térmico insuficiente y si el alimento se conserva entonces en condiciones

que permitan el crecimiento, los esporos pueden germinar, conduciendo a la producción de toxina (ICMSF, 1996).

Si no es destruida por el calor antes de servir, la toxina puede ser ingerida junto con el alimento.

Esporos de *C. botulinum* dar lugar al denominado botulismo infantil. El proceso no es determinado por la ingestión de toxinas preformadas sino por la ingestión de esporos presentes en los alimentos, entre ellos la miel, seguida de germinación, multiplicación y producción de toxina en el intestino. De ahí que no se recomiende a niños menores de 9-12 meses de edad (ICMSF, 1996).

Los animales tienen distinta sensibilidad a las diversas toxinas, dependiendo de la especie de que se trate. Los ratones son muy sensibles a todas las toxinas. El hombre es sobre todo sensible a las toxinas A, B, E y F.

La toxina de *C. botulinum* es tan potente que sólo una insignificante cantidad basta para producir la muerte. Su poder tóxico es aproximadamente 500.000 veces más elevado que el de la estricnina y la 10^{-8} a 10^{-9} g por kg de peso corporal.

Los alimentos vectores del botulismo son alimentos en conserva, tanto de origen vegetal como animal. Para los primeros la infección se realiza a partir del suelo y para los segundos a partir del agua o peces o a partir del contenido intestinal cuando las condiciones de sacrificio del animal son defectuosas, permitiendo el paso de las bacterias entéricas en el músculo o cuando la extracción de vísceras no se efectúa correctamente.

El botulismo se asocia con los siguientes alimentos:

- Aquellos alimentos que proporcionen unas condiciones anaerobias adecuadas, alimentos enlatados de acidez baja y media (pH >4.5) mal esterilizados (Eley, 1992; Frazier, 1993).
- Alimentos cuyos caracteres organolépticos no están muy alterados, ya que de otra forma no serían consumidos.

- Cuidado con los alimentos más ácidos y aquellos cuyo porcentaje de proteínas es bajo. Ej. tomates, albaricoques, peras, melocotones. (Tratamiento térmico insuficiente \Rightarrow germinación de esporos \Rightarrow liberación de toxinas) (Mossel, 1985; Eley, 1992).
- Alimentos con olor pestilente y rancio como por ejemplo las carnes y las hortalizas proteicas de acidez baja (Frazier, 1993).
 - maíz > guisantes > judías verdes > espinacas
- Las conservas de alimentos de origen animal y vegetal, principalmente las de fabricación doméstica y artesanal, insuficientemente esterilizadas (Eley, 1992; Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).
 1. Hortalizas: judías verdes, maíz dulce, remolacha de mesa, espárragos, espinacas, cardo, habas verdes, guisantes, champiñones.
 2. Carnes, sobre todo cerdo.
 3. Otros productos conservados por otros procedimientos: salazones no nitrificados, productos conservados en grasa, productos ahumados.
 4. Carnes enlatadas inadecuadamente procesadas, y alimentos fermentados tradicionales.
 5. La conservación de los alimentos en envases plásticos ha sido el origen de algunos casos de botulismo, ya que en estos envases las condiciones son anaeróbicas, debido a un vacío parcial.
 6. Alimentos al vacío y en aceite.

II.2.5.8.4. CLINICA

Una vez que la toxina ha sido absorbida, se asocia a la unión neuromuscular de los nervios afectados e inhibe la liberación de acetilcolina, lo que causa una parálisis muscular. La toxina botulínica actúa al nivel de las fibras colinérgicas de la musculatura lisa, de las terminaciones nerviosas parasimpáticas post-ganglionares y algunas terminaciones nerviosas simpáticas post-ganglionares, lo cual explica los síntomas que tienen lugar posteriormente (Mandell y Murray 1997).

Los síntomas típicos del botulismo suelen aparecer a las 12 - 36 horas (Mandell, 1997).

Los síntomas más precoces consisten en trastorno intestinal agudo seguido de náuseas, a veces vómitos y posiblemente diarrea, junto con cansancio, vértigo, dificultad para tragar, voz pastosa, debilidad en los miembros, visión borrosa y cefalalgia (Eley, 1992; Bourgeois, 1994; Mandell, 1997).

- Parálisis oculares.
- Sequedad de la boca (por defecto en la salivación).
- Constricción de la garganta.
- La lengua aumenta de grosor y se vuelve saburral.
- Problemas en el habla y en la deglución.
- Constipación y, a menudo, retención de orina.
- Trastornos respiratorios con parálisis.
- Ausencia de trastornos sensitivos.
- Calambres abdominales.

Los músculos de contracción involuntaria se paralizan, la parálisis se extiende a los músculos del aparato respiratorio (diafragma, músculos intercostales) y al músculo cardíaco, y la muerte puede sobrevenir como consecuencia de la parada respiratoria a las 24 horas, raramente se produce parálisis de la musculatura estriada voluntaria (nervios adrenérgicos). En las formas gravísimas se pueden producir pérdidas de conciencia (Eley, 1992).

En las intoxicaciones producidas por las toxinas de los tipos A, B y E, los síntomas son parecidos, aunque las náuseas, los vómitos, y la retención de orina suelen ser más graves en los casos de intoxicación por toxina de tipo E.

El tipo A produce la toxina más letal, que determina una intoxicación fulminante de curso rápido. Los tipos serológicos distintos al tipo A, dan lugar a cuadros de evolución menos rápida, aunque suelen conducir a la muerte por asfixia si

los pacientes no son tratados en el momento adecuado con los antisueros específicos o con un suero polivalente (Bourgeois, 1994).

El tratamiento del botulismo exige soporte ventilatorio adecuado, eliminación del microorganismo del tracto gastrointestinal mediante lavado gástrico y terapia con penicilina, y empleo de antitoxina botulínica trivalente (contra las toxinas A, B y E) para copular la toxina circulante en el torrente sanguíneo. El soporte ventilatorio ha proporcionado una disminución significativa de la mortalidad (Mandell y Murray 1997).

La administración de antitoxina no suele dar buenos resultados si se inyecta después de haber aparecido los síntomas de botulismo, aunque siempre se debe utilizar lo más pronto posible ya que entonces puede resultar eficaz. Otros tratamientos que se utilizan en el botulismo son: la respiración artificial, mantener sedado al enfermo, mantener el equilibrio de líquidos del organismo y, tal vez, los tratamientos de eliminación (Eley, 1992; Frazier, 1993; ICMSF, 1996).

En los casos mortales, la muerte suele sobrevenir transcurridos de 3 a 6 días después de haber sido ingerido el alimento que contenía la toxina, aunque este tiempo puede acortarse o alargarse y sino en algunos casos se tiene una convalecencia lenta de 6-8 meses (Frazier, 1993).

La recuperación completa de los pacientes que sobreviven a esta fase inicial requiere con frecuencia muchos meses o años, hasta que se regeneran las terminaciones nerviosas afectadas.

II.2.5.8.5. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico clínico de botulismo se confirma mediante aislamiento del microorganismo o demostración de la actividad de la toxina. En la enfermedad causada por alimentos se debe intentar el cultivo de *C. botulinum* en las heces del paciente y el alimento implicado, si se encuentra disponible (Mandell y Murray, 1997).

El aislamiento de *C. botulinum* en muestras contaminadas por otros microorganismos, se puede mejorar mediante calentamiento de la muestra a 80°C durante 10 minutos para matar todas las células vegetativas (Murray, 1997).

La actividad de la toxina se busca en el alimento, la muestra de heces y el suero del paciente mediante un bioanálisis en el ratón. La muestra se fracciona en dos partes y una de ellas se mezcla con antitoxina. Las dos porciones se inoculan después por vía intraperitoneal a ratones. Si el tratamiento con antitoxina protege a los animales, se confirma la presencia de actividad de la toxina (Murray, 1997).

Aunque han sido publicados métodos de electroinmunodifusión, de inmunolectroforesis de contracorriente, de hemoaglutinación pasiva inversa, de radioinmunoensayo y de ensayo de la inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA), ninguno ha sustituido por ahora el bioensayo del ratón que es el método diagnóstico que generalmente se utiliza (ICMSF, 1996).

La excreción de la toxina puede continuar hasta 1 mes después del inicio de la enfermedad y los coprocultivos pueden permanecer positivos por un período similar.

II.2.5.8.6. CONDICIONES PARA QUE SE PRODUZCA UN BROTE

Para que se produzca un brote de botulismo son necesarias las siguientes condiciones (Frazier, 1993).

1. Existencia de esporas de *C. botulinum* de los tipos A, B y E en el alimento que se enlata o que se somete a cualquier otro tipo de tratamiento.
2. Un alimento en el que las esporas sean capaces de germinar y en el que los clostridios sean capaces de multiplicarse y de producir toxina.
3. Supervivencia de las esporas del microorganismo después de un tratamiento térmico insuficiente o cualquier otro tratamiento incorrecto.

4. Después del tratamiento, condiciones del medio que permitan la germinación de las esporas, la multiplicación del microorganismo y la producción de toxina por el mismo.
5. Cocción del alimento insuficiente para inactivar la toxina.
6. Ingestión del alimento que contiene la toxina.

II.2.5.8.7. MEDIDAS PREVENTIVAS

Una propiedad importante de esta toxina es su relativa termolabilidad. El tratamiento térmico necesario para destruirla depende del tipo de microorganismo que produce la toxina y del medio en el cual se somete a calentamiento. En el laboratorio, los tratamientos térmicos de 5 a 6 minutos a 80°C inactivan la toxina de tipo A, mientras que para inactivar la toxina de tipo B se necesitará un tratamiento térmico de 15 minutos de duración a una temperatura de 90°C. Esto no significa que la cocción total de un alimento altamente sospechoso elimine totalmente el riesgo de la toxina.

El enlatado de los alimentos ácidos constituye un ejemplo de cómo *C. botulinum* puede ser eliminado con un margen de seguridad mediante la cocción a 121°C durante 3 minutos o mediante tratamiento equivalente (ICMSF, 1996).

La toxina puede ser destruida por rayos gamma. La toxina persiste en los alimentos durante mucho tiempo, sobre todo cuando los alimentos se han tenido almacenados a baja temperatura. Es inestable a valores de pH por encima de 6,8.

Las toxinas botulínicas son desnaturalizadas, por consiguiente, inactivadas, por efecto del calor. Los datos varían según los autores: a 80°C son necesarios de 8 a 9 minutos y a 100°C algunos segundos. Una cocción del alimento puede, por consiguiente, en la mayoría de los casos, desnaturalizarlas y hacer que el alimento no sea peligroso.

Las esporas de *C. botulinum* sobreviven durante mucho tiempo tanto en los alimentos frescos como en los alimentos precocinados congelados y que son capaces de multiplicarse y producir toxina si estos alimentos se mantienen el suficiente tiempo a una temperatura suficientemente elevada una vez descongelados. De igual modo, se debe evitar el uso de temperaturas incorrectas en aquellos alimentos en los cuales se puede multiplicar *C. botulinum* y que es posible que estén contaminados.

Podemos definir dos líneas de prevención:

A) A **nivel familiar** (Eley, 1992; Frazier, 1993; Bourgeois, 1994; Mandell, 1997).

1. Utilización de productos frescos.
2. Limpieza cuidadosa de los alimentos que se utilizan como materia prima en las conservas.
3. Esterilización de las conservas en recipientes tipo autoclave y evitar la recontaminación y conservación en lugares frescos.
4. Salazonado correcto (concentraciones de NaCl $\geq 15\%$)
5. Rechazar todos aquellos alimentos, tanto si son frescos como enlatados, que presenten señales de alteración y cualquier grado de presión en el interior del envase.
6. Evitar el consumo de alimentos que han sido cocidos, guardados, y que después no han sido suficientemente calentados.
7. La ebullición de todo alimento sospechoso durante 15 minutos como mínimo.
8. No consumir alimentos crudos ni precocinados que hayan sido congelados, descongelados, y mantenidos a temperatura ambiente.
9. Negarse a probar cualquier alimento dudoso.

B) A **nivel industrial**:

1. Empleo de la esterilización en los alimentos enlatados. 4 minutos a 120°C (Eley, 1992; Frazier, 1993; Bourgeois, 1994).
2. Mantener unas condiciones higiénicas apropiadas durante la elaboración del pescado ahumado: 82°C durante 30 minutos en la parte más fría. El

pescado debe ser congelado inmediatamente después de su envasado y se debe mantener congelado (Frazier, 1993).

3. Adición conjunta de la sal, que rebaja la actividad de agua, y el nitrito sódico (Bourgeois, 1994).
4. Adición de nitritos en una concentración máxima de 200 ppm, a productos sensibles como los jamones. En el caso de productos no ácidos la adición de nitritos permite, a partir de un contenido de 20 ppm inhibir la germinación y la proliferación del microorganismo.
5. Controles bacteriológicos del producto (Bourgeois, 1994).
6. Vigilancia e higiene en la distribución (Bourgeois, 1994).

II.2.6. TÉCNICAS RÁPIDAS DE DIAGNÓSTICO

El objetivo fundamental de los métodos modernos de análisis microbiológico es la rapidez en la determinación y la facilidad de su automatización. Estos métodos se basan en aplicar diferentes medidas físicas, que bien por medida directa, o bien, por medida indirecta de algún componente celular o metabólico nos da idea de aspectos a estudiar en los microorganismos.

Las técnicas rápidas nos permiten introducir correcciones en el curso de la fabricación de un determinado producto, y a la vez de bajo coste, de forma que se puedan realizar los controles necesarios sin sobrecargar excesivamente los costes de producción.

Aunque también hay que tener en cuenta las limitaciones de estos métodos, deben ser evaluados durante la rutina de laboratorio y cuidadosamente seleccionados, utilizándolos como método aproximativo. Si el resultado es negativo se dará como tal, pero si es positivo debe confirmarse con métodos tradicionales de identificación.

En general, podemos clasificar los métodos modernos en los siguientes:

- ✓ De enumeración directa
- ✓ De detección de constituyentes celulares
- ✓ De medición de actividades metabólicas
- ✓ Otros métodos

II.2.6.1. TÉCNICAS RÁPIDAS DE ENUMERACIÓN DIRECTA

II.2.6.1.a. Citometría de flujo

Basada en la medición del tamaño de partículas, esta técnica se ha utilizado, junto con marcadores, para el recuento rápido de levaduras, mohos y células bacterianas en productos alimentarios (vegetales congelados, yogur, bebidas de fruta, etc). Se ha utilizado en la monitorización de biomasa microbiana durante los procesos de manufactura, citometría de flujo seguida de una medida directa de crecimiento microbiano. La reproducibilidad de los resultados y la correlación con el

método estándar de recuento en placa obtenidos en condiciones industriales hacen de esta técnica un buen método predictivo para control de calidad de procesos y productos.

II.2.6.1.b. Turbidimetría o Nefelometría

Basada en la propiedad que tienen las partículas de pequeño tamaño de refractar la luz incidente.

II.2.6.1.c. Epifluorescencia (DEFT)

Combinación de filtración, tinción vital y recuento de células con microscopio de epifluorescencia.

II.2.6.2. TÉCNICAS RÁPIDAS DE DETECCIÓN DE CONSTITUYENTES CELULARES

II.2.6.2.a. Sondas

Sondas de DNA específicas de cada microorganismo.

Los recientes avances en biología molecular, incluyendo el empleo de sondas de ácidos nucleicos, han conducido a la creación de nuevos métodos de detección de microorganismos patógenos en muestras clínicas y alimentos.

Estas sondas pueden definirse como pequeños fragmentos marcados de ácido nucleico que pueden buscar y unirse a fragmentos diana de secuencia complementaria de DNA o RNA (en la muestra clínica o de alimento). Este proceso denominado hibridación, constituye el fundamento de esta tecnología.

Están los tests **ACCUPROBE** que permiten identificar las bacterias patógenas más frecuentes. Combinando sensibilidad y especificidad de las sondas DNA con el HPA (Hybridization Protection Assay) estos tests permiten identificar bacterias a partir de una única colonia en sólo 30 minutos.

Sin embargo, muchos ensayos necesitan uno o dos días debido a la fase de enriquecimiento requerida por algunos patógenos y así no podrían considerarse como procedimientos rápidos. Cabe destacar también que no se ha llegado a una sensibilidad excesiva con el uso de las sondas.

Una solución al problema puede ser la aparición de dos técnicas de amplificación desarrolladas recientemente. La primera aproximación, utilizando la **Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)**, supone la amplificación de la secuencia diana *in vitro*, normalmente por un factor de 100.000 en unas pocas horas, utilizando una DNA polimerasa. La segunda aproximación emplea el enzima **Q beta replicasa** una vez que la secuencia diana se ha unido a la sonda. Este enzima puede amplificar el complejo diana-sonda un billón de veces en una reacción de un solo paso y en menos de 30 minutos. Obtendremos así una mayor sensibilidad en la detección de bajas concentraciones de patógenos microbianos directamente de muestras clínicas y de alimentos, eliminando así la fase de enriquecimiento y reduciendo considerablemente el tiempo necesario para completar el ensayo (Eley, 1992).

II.2.6.2.b. Inmunoensayos

Basados en las reacciones antígeno-anticuerpo empleando radioisotopo o enzimas.

El test de **ELISA** (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) se emplea para la detección y cuantificación de antígenos microbianos. Su especificidad aumenta si se utilizan anticuerpos monoclonales. La sensibilidad de detección de ELISA está estimada sobre 10^5 ufc/ml.

En la aglutinación en látex, las perlas de látex ligadas a anticuerpos se aglutinan con antígenos específicos (células bacterianas) formando masa o precipitado. Esta reacción es rápida pero requiere alrededor de 10^7 células para que se produzca la reacción.

La aglutinación pasiva reversa en látex se utiliza para la detección de toxinas. Los anticuerpos son adheridos a las perlas de látex y usadas para detectar un antígeno soluble.

Otro sistema sería el **VIDAS**, un inmunoanalizador para la rápida detección de patógenos en la industria alimentaria. El principio es simple y está basado en una específica reacción entre un anticuerpo y un antígeno. La sensibilidad y la especificidad del análisis son las principales ventajas del sistema.

Las etapas del inmunoanálisis VIDAS son las siguientes:

- 1) El anticuerpo, especialmente dirigido contra el microorganismo que se quiere detectar, está fijado en el interior del aparato que actúa como un pipeto.
- 2) Este anticuerpo capturará el antígeno si éste está presente en la muestra dispensada en la tira del sistema.
- 3) Después de varios procedimientos de lavado, un segundo anticuerpo podría fijarse al antígeno usando la técnica del “sandwich”.
- 4) Este segundo anticuerpo está conjugado con la enzima, la cual producirá una reacción fluorescente con el sustrato. La intensidad de esta reacción es medida e interpretada por el sistema.

Los resultados son obtenidos en menos de 50 minutos después del enriquecimiento y 48 horas cuando son muchos los parámetros a analizar. Los reactivos del VIDAS son evaluados y validados por laboratorios referenciados. No existe riesgo en el procedimiento manual o contaminaciones cruzadas durante el análisis. Todos los kits tienen la garantía de AFNOR.

A continuación se da un listado de la variabilidad de test VIDAS existentes en el mercado y para que tipos de muestras se utiliza (tabla 12).

Tabla 12. Diferentes test VIDAS.

VIDAS Listeria (LIS) <i>60 tests</i>	<i>Detección de Listeria en alimentos y muestras medioambientales.</i>
VIDAS Salmonella (SLM) <i>60 tests</i>	<i>Detección de Salmonella en alimentos y muestras medioambientales.</i>
VIDAS Staph enterotoxin (SET) <i>30 tests</i>	<i>Detección de enterotoxinas estafilocócicas A, B, C1, C2, C3, D y E en alimentos.</i>
VIDAS E. coli O157 (ECO) <i>30 tests</i>	<i>Detección de E. coli serotipo O157 en alimentos y muestras medioambientales.</i>
VIDAS Listeria monocytogenes (LMO) <i>60 tests</i>	<i>Detección específica de L. monocytogenes en alimentos y muestras medioambientales.</i>
VIDAS Campylobacter (CAM) <i>30 tests</i>	<i>Detección de Campylobacter en alimentos y muestras medioambientales.</i>
VIDAS Salmonella Inmuno-Concentration (ICS) <i>60 tests</i>	<i>Detección en 24 horas de Salmonella en productos cárnicos.</i>

VIDAS ICS optimiza la detección de *Salmonella* debido a un principio innovador, el enriquecimiento inmunológico automatizado. Los sucesivos pasos del enriquecimiento selectivo usando los caldos Rappaport-Vassiliadis y Selenito-Cistina son reemplazados, aunque sí se utiliza el agua de peptona tamponada durante 16-24 horas a 37 °C y es de ésta de la cual se parte para el VIDAS ICS que durante 40 minutos y posteriormente el VIDAS SLM durante otros 45 minutos con algún paso intermedio no superando las 24 horas en el tiempo de detección total llegamos a *Salmonella ssp.*

También existe otro sistema el **VITEK** que consiste en una serie de “tarjetas” cada una de las cuales contiene 30 microceldas con todos los sustratos requeridos para las diferentes reacciones de identificación. Cada “tarjeta” está empaquetada individualizadamente y almacenada en condiciones óptimas que garantice su uso. Estas son introducidas en el interior del aparato que las lee y tan rápidamente tenga los resultados se pueden imprimir en un listado o ver en pantalla, gracias al ordenador incorporado con una base de datos actualizada. En la tabla 13 se listan las diferentes tarjetas y su tiempo de detección.

Tabla 13. Identificación y tiempo de detección de diferentes tarjetas del VITEK.

	<i>IDENTIFICACIÓN</i>	<i>Tiempo de detección</i>
GNI card	<i>Bacterias Gram (-)</i> <i>69 taxones</i>	<i>4-18 horas</i>
GPI card	<i>Bacterias Gram (+)</i> <i>44 taxones</i>	<i>4-15 horas</i>
YBC card	<i>Levaduras</i> <i>27 taxones</i>	<i>24-48 horas</i>
BAC card	<i>Bacillus</i> <i>17 taxones</i>	<i>6-15 horas</i>
GNI card	<i>Bacterias Gram (-)</i> <i>69 taxones</i>	<i>4-18 horas</i>
NFC card	<i>Bacterias Gram (-)</i> <i>41 taxones</i>	<i>6-18 horas</i>
ANI card	<i>Anaerobios</i> <i>65 taxones</i>	<i>4 horas</i>

II.2.6.2.c. Bioluminiscencia

Como técnica rápida está también la **bioluminiscencia** a partir de bacteriófagos recombinantes. El fundamento es insertar “genes luz” en el interior de bacteriófagos, de modo que sean transportados a la célula hospedadora durante el proceso de la infección vírica. Una vez insertados, el DNA fágico puede dirigir la expresión la expresión de los genes luz y así la célula hospedadora adquiere un fenotipo bioluminiscente.

También se determina el ATP por técnicas de luminiscencia.

II.2.6.2.d. LAL y actividad aminopeptídica

Facilidad de coagulación de un lisado de amebocitos obtenido del plasma del cangrejo *Limulus polyphemus* por endotoxinas lipopolisacáridos presentes en la pared celular de las bacterias Gram negativas.

II.2.6.3. TÉCNICAS RÁPIDAS DE ACTIVIDADES METABÓLICAS

Son métodos basados en la monitorización de los cambios producidos en las características ópticas de los medios de cultivo, como resultado del metabolismo

microbiano. El cambio de color producidos por variaciones en el pH, potencial redox y actividad enzimática son medidos continuamente. Estos cambios producidos por los microorganismos llegan a ser significativos cuando la población alcanza una masa crítica de 10^6 ufc/ml. El tiempo necesario para alcanzar esta población es inversamente proporcional al número de microorganismos presentes en la muestra. Cuando el número de microorganismos es elevado, el tiempo de detección es menor.

II.2.6.3.a. Microcalorimetría

Medida de la cantidad de calor debida al catabolismo microbiano.

II.2.6.3.b. Radiometría

La producción de CO₂ originado en el metabolismo.

II.2.6.3.c. Impedancia

La resistencia al flujo de una corriente eléctrica en medio de cultivos microbianos.

El **BACTOMETER**[®] es el sistema de detección y recuento rápidos especialmente pensado para el control de los productos lácteos y alimentarios, entre otros. Su principio de medida, la impedancimetría, está reconocido actualmente como el más adaptado para el control bacteriológico en la industria.

Los resultados se obtienen generalmente en horas y no días. Cuanto más contaminadas se encuentran las muestras, más rápidamente las detecta BACTOMETER, lo que permite llevar a cabo acciones inmediatas y eficaces sobre el proceso de fabricación. Los resultados aparecen en la pantalla a medida que se van obteniendo y se interpretan automáticamente por medio de colores que corresponden al nivel de contaminación de la muestra. El color, la opacidad o la consistencia de las muestras no interfieren en la medida.

La manipulación de las muestras se reduce al mínimo.

El sistema BACTOMETER está integrado por varias partes que son las siguientes:

- El BPU(Bactometer Processing Unit) asegura a la vez la incubación y la lectura de los módulos. Cada 6 minutos se efectúa una lectura de cada pocillo sin ningún tipo de intervención manual. Está constituido por dos incubadores independientes en los que la temperatura puede fijarse entre 8° y 55° C.
- El ordenador (NC 2) realiza un control constante de las operaciones en curso, memoriza los valores, hace el tratamiento e interpreta los resultados.
- El terminal en color facilita el diálogo con el sistema y la visualización rápida de los resultados en cualquier momento mediante informes y gráficos.
- La impresora edita, según necesidades, los informes de resultados o las curvas de crecimiento.

De utilización simple y rápida, el módulo se compone de 16 pocillos en cuyo fondo se encuentran los electrodos de medida. El módulo permite el uso de medios de cultivo líquidos o sólidos en pequeñas cantidades. Para el análisis de volúmenes importantes se puede incluso poner en ellos una membrana filtrante. Los módulos se envían estériles y en envase unitario.

El principio sería que las moléculas del medio de cultivo: proteínas, hidratos de carbono, etc., eléctricamente neutras o débilmente ionizadas, se transforman por la acción de los microorganismos en numerosas moléculas más pequeñas, de carga y de movilidad eléctricas más elevadas: aminoácidos, lactatos, etc. Estas modificaciones pueden medirse con dos electrodos sumergidos en el medio de cultivo.

La impedancimetría es el principio que aumenta su productividad. Permite detectar pequeñas variaciones eléctricas y detectar la presencia de microorganismos mucho antes de que una colonia sea visible en un medio de cultivo.

BACTOMETER es el único sistema que propone la medida de 3 parámetros:

- La **impedancia** es la resistencia total medida en un medio conductor.

- La **conductancia** está relacionada con el aumento de conductividad del medio (inversa de la resistencia).
- La **capacitancia** está relacionada con la acumulación de cargas eléctricas por aumento de la concentración iónica en la proximidad de los electrodos. Está particularmente adaptada a la detección de gérmenes que liberan metabolitos poco ionizados (levaduras, mohos...) y para la utilización de ciertos medios especiales cuya conductividad es elevada.

En la práctica, la medida en el pocillo cada 6 minutos permite establecer una curva de crecimiento en función del tiempo y del porcentaje de variación eléctrica. Según su número y su actividad metabólica los microorganismos provocan en un momento determinado una variación importante que da lugar a una inflexión repentina de la curva. A este punto de inflexión se le denomina tiempo de detección. Así una contaminación inicial debida a un solo microorganismo viable puede ser detectada. Generalmente debe ser utilizado para productos estériles, que por definición no deben contener ningún microorganismo aerobio revivificable, como se observa en la figura 4, mientras que en la tabla 14 se listan algunos tipos de alimentos y su tiempo de detección en este aparato.

Figura 4. Curva de crecimiento

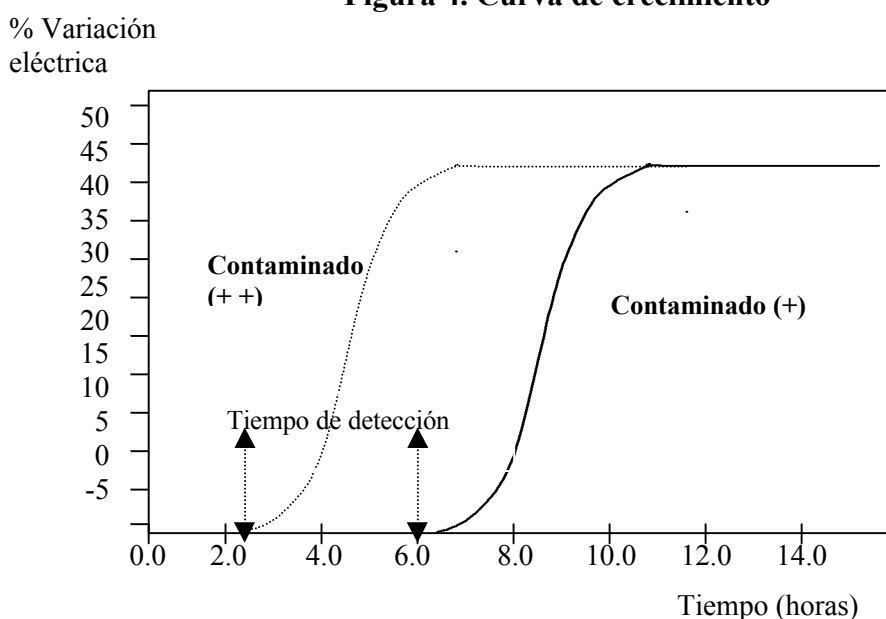


Tabla 14. Tipos de alimentos y tiempos de detección.

ALIMENTOS	DETECCIÓN
<p>Carnes, pescados, legumbres, platos cocinados</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Microorganismos totales: detección de una contaminación de 10^6ufc/g en 2-3 h. • Coliformes: 1000 coliformes/g en 6 h. • Staphylococcus aureus: en menos de 24 h.
<p>Derivados lácteos</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Flora aerobia mesófila: detección de una contaminación de 10^5ufc/ml en menos de 4 h. • Coliformes: 10 coliformes en menos de 9 h. • Mohos y levaduras: en 48 h. • Bacterias Gram (-): en 24 h.
<p>Bebidas</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Mohos y levaduras: en 48 h. • Microorganismos totales: 1000ufc/ml en menos de 12 h. • Coliformes: 10 coliformes en menos de 10 h.

II.2.6.3.d. Reducción de colorantes

Basado en la modificación del color de los medios por variación del potencial redox o cualquier otra magnitud física.

II.2.6.3.e. Identificación rápida automatizada

Basada en micrométodos manuales bioquímicos.

API 20 E[®] ha sido el primer sistema de identificación que asoció una galería de tests bioquímicos con una base de datos como se observa en la tabla 15.

Tabla 15. Galería API.

API 20 E (108 especies o taxones identificados)	Bacilos Gram (-) en 18-24 h.
RapiD 20 E (61 especies o taxones identificados)	Enterobacterias en 4 h.
API 20 NE (64 especies o taxones identificados)	Bacilos Gram (-) no enterobacterias en 24-48 h.
API 10E/ 10S (50 especies o taxones identificados)	Identificación simplificada de los bacilos Gram (-) en 18-24 h.
API Staph (22 especies o taxones identificados)	Estafilococos y micrococos en 18-24 h.
API 20 Strep (47 especies o taxones identificados)	Estreptococos y bacterias próximas en 4 ó 24 h.
API 20 C AUX (43 especies o taxones identificados)	Levaduras en 24-48 h.
API 20 A (67 especies o taxones identificados)	Bacterias anaerobias en 24-48 h.
API Coryne (33 especies o taxones identificados)	Corinebacterias y bacterias corineformes en 24 h.
API Listeria (6 especies o taxones identificados)	<i>Listeria</i> en 24 h.
API NH (10 especies o taxones identificados)	<i>Neisseria</i> , <i>Haemophilus</i> y <i>B. catarrhalis</i> en 2 h.
API Campy (18 especies o taxones identificados)	<i>Campylobacter</i> en 24h.
API 50 CHB Medium (24 especies o taxones identificados)	<i>Bacillus</i> en 48 h.
API 50 CHL Medium (52 especies o taxones identificados)	<i>Lactobacillus</i> en 48 h.
API 50 CHE Medium (111 especies o taxones identificados)	Identificación y biotipaje de las enterobacterias en 48 h.

II.2.6.4. OTROS MÉTODOS

Las modificaciones simples de algunos procedimientos microbiológicos estándar puede suponer una reducción de trabajo, tiempo y material.

Existe una prueba rápida para la investigación de *Escherichia coli* con suplemento 4-metilumbeliferil- β -D-glucurónico (MUG), sustrato fluorogénico, detectando fácilmente las colonias a una longitud de onda de 366 nm. Las especies que resultan fluorescentes se confirman con la reacción del indol.

II.2.7. INDICADORES

La presencia de microorganismos en los alimentos no significa necesariamente un peligro para el consumidor o una calidad inferior de estos productos. En realidad, si se exceptúa el reducido número de productos esterilizados, cada bocado de alimento contiene levaduras inocuas, mohos, bacterias y otros microorganismos. La mayor parte de alimentos se convierten en potencialmente peligrosos para el consumidor sólo después de que han sido violados los principios de higiene, limpieza y desinfección. Si los alimentos han estado sometidos a condiciones que pudieran haber permitido la llegada a los mismos y/o la multiplicación de agentes infecciosos o toxigénicos, pueden constituirse en vehículo de transmisión de enfermedades (ICMSF, 1983 y 2000).

La amplia utilización de grupos o especies de microorganismos, cuya enumeración o recuento se realiza con mayor facilidad y cuya presencia en los alimentos (en determinado número) indica que estos productos estuvieron expuestos a condiciones que pudieran haber introducido organismos peligrosos y/o permitido la multiplicación de especies toxigénicas o infecciosas se les denominan “*indicadores*” y sirven para evaluar tanto la seguridad que ofrecen los alimentos en cuanto a microorganismos y sus toxinas como su calidad microbiológica (ICMSF, 1983 y 2000).

El principal objetivo de la utilización de bacterias como indicadores de prácticas no sanitarias es revelar defectos de tratamiento que llevan consigo un peligro potencial (ICMSF, 2000).

Las **bacterias aerobias mesófilas** pueden ser consideradas generalmente como organismos indicadores. Recuentos altos en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario, mientras que en los productos perecederos pueden indicar también condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento. La presencia de un número elevado de bacterias aerobias mesófilas que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, significa que pueden haberse dado

condiciones favorables a la multiplicación de los microorganismos patógenos de origen humano o animal (ICMSF, 1983 y 2000).

E. coli es el indicador clásico de la posible presencia de patógenos entéricos en el agua, en los moluscos, en los productos lácteos y en otros alimentos. Cifras sustanciales de este microorganismo en un alimento sugieren una falta general de limpieza en el manejo del mismo y un almacenamiento inadecuado. La presencia de *E. coli* en un alimento no constituye una connotación directa de la presencia de un patógeno sino que implica únicamente un cierto riesgo de que pudiera estar presente.

Los valores de *E. coli*, de los coliformes y de la familia completa de las *Enterobacteriaceae* se contemplan como indicadores de contaminación fecal.

En los alimentos naturales y en las superficies de los utensilios y equipos de la industria de alimentos, varios tipos de *Enterobacteriaceae* permanecen más tiempo que *E. coli*.

En los alimentos frescos o naturales de origen animal, la mayor parte de las *Enterobacteriaceae* proceden de contaminaciones de origen fecal y su presencia en gran número puede indicar una manipulación no higiénica y/o un almacenamiento inadecuado.

En los alimentos que han recibido un tratamiento para garantizar su sanidad, la presencia de niveles considerables de *Enterobacteriaceae* o de coliformes indica:

- (1) tratamiento inadecuado y/o contaminación posterior al tratamiento, más frecuentemente a partir de materias primas, equipos sucios o manejo no higiénico,
- (2) multiplicación microbiana que pudiera haber permitido el crecimiento de toda la serie de microorganismos patógenos y toxigénicos (ICMSF, 1983 y 2000).

Los **enterococos** pueden tener un papel significativo como indicadores de prácticas de limpieza y desinfección deficientes en las industrias de alimentos, debido a su gran resistencia a la desecación, a las temperaturas elevadas y bajas y a los detergentes y desinfectantes. La elevada resistencia es la razón de la falta de validez de estos cocos como indicadores generales de contaminación fecal (ICMSF, 1983 y 2000).

Entre otros indicadores que se usan a veces como indicadores podemos mencionar al *Staphylococcus aureus*, para la contaminación procedente de vías orales, nasales, piel y otros orígenes. Si bien el material y equipos sucios y las materias primas de origen animal pueden ser asimismo la fuente de la contaminación.

La presencia de bacilos mesófilos en alimentos enlatados indica que ó bien el envase no se cerró herméticamente ó que el tratamiento térmico fue insuficiente para destruir los esporos. Existe la posibilidad de que en tales circunstancias pudiera estar presente también *Clostridium botulinum*. Si fuera así, pudiera haber tenido lugar el crecimiento del microorganismo y la producción de toxina en los alimentos enlatados de acidez escasa (pH 4,6 ó más elevado) (ICMSF, 1983).

II.2.8. IMPORTANCIA ACTUAL DE LAS INFECCIONES E INTOXICACIONES ALIMENTARIAS DE ORIGEN MICROBIANO

Los brotes epidémicos en general y los alimentarios en particular, constituyen una situación de emergencia sanitaria, debido fundamentalmente a la implicación que tienen para la salud individual y colectiva. Su aparición puede suponer un riesgo grave para la salud y la vida humana y requieren la puesta en marcha de medidas de prevención y control.

Los alimentos contaminados por agentes biológicos son la mayor causa de brotes de toxiinfección, un 76,4% son causados por bacterias (Notermans, 1992).

Las enfermedades transmitidas por alimentos se clasifican en las siguientes:

- ★ **Intoxicaciones:** causadas por la ingestión de alimentos que llevan en su composición sustancias tóxicas que pueden ser de origen químico no bacteriano o toxinas producidas por microorganismos (toxina estafilocócica, toxina botulínica).
- ★ **Infecciones:** causadas por ingestión de alimentos contaminados por microorganismos patógenos que invaden la mucosa intestinal u otros tejidos y se multiplican o elaboran enterotoxinas.

Las enfermedades infecciosas se dividen frecuentemente en dos grupos, según que la denominada dosis mínima infectiva (DMI) ó la dosis infectiva al 50% (DI_{50%}) sea alta o baja. La DMI se define como el menor número de unidades formadoras de colonias que han de desencadenar síntomas de enfermedad en individuos sanos y la DI_{50%} como el número que provocará la enfermedad en aproximadamente el 50% de la población expuesta. Sin embargo, la dosis infectiva se ve influenciada por muchos factores, además de los asociados al microorganismo en cuestión.

La resistencia de los individuos y, consiguientemente, la dosis infectiva depende de la alimentación, del estado físico, de las defensas humorales y orgánicas, de la acidez del jugo gástrico y del carácter de la flora intestinal. El efecto neutralizante sobre el jugo gástrico de un determinado alimento portador de un cierto número de microorganismos enteropatógenos influirá también en la capacidad del alimento para iniciar la infección; ello es así, debido a que el efecto bactericida del jugo gástrico se debe fundamentalmente a su bajo pH.

La edad, el SIDA, el cáncer y la *diabetes mellitus* incrementan la susceptibilidad en los consumidores hacia los brotes de toxiinfección. El CDC (*Centers for Disease Control*) enfatiza en la importancia de la ingestión de productos crudos de animales como una fuente de toxiinfección en personas infectadas por el VIH. Las infecciones invasivas por *Salmonella spp.* son más comunes entre las personas con diabetes que entre la gente en general (Potter, 1992).

Los valores de las dosis infectivas pueden variar ampliamente según el tipo de vehículo con el que se ingieran los microorganismos. Cuando ello sucede con los alimentos, éstas son, por lo general, de la magnitud de 10^6 . Por el contrario, cuando se ingieren con pequeñas cantidades de agua sola o de alimentos, algunas horas después de la comida, las dosis mínimas infectivas pueden ser muy pequeñas, quizás del orden de 1 a 10 células únicamente.

Los principales factores que pueden contribuir a una infección son los siguientes (CESNID, 1999):

- Compra del alimento contaminado.
- Refrigeración inadecuada.
- Descongelación incorrecta.
- Mantenimiento de productos elaborados por debajo de +65°C.
- Mezcla de alimentos crudos con alimentos cocinados.
- Contaminación cruzada.
- Cocciones incorrectas.
- Recalentamiento por debajo de +65°C.

- Período de tiempo superior a una hora desde la finalización de la cocción hasta su consumo, manteniendo los alimentos de forma inadecuada.
- Utilización de las sobras.
- Limpieza deficiente del equipamiento y los utensilios.
- Personas infectadas que manipulan los alimentos.
- Recipientes o tuberías tóxicas.

La higiene de manos deficiente por parte de los manipuladores implica deficientes resultados en la calidad microbiológica de los alimentos, presencia de bacterias patógenas o potencialmente patógenas en los alimentos y, en consecuencia, a la aparición de infecciones e intoxicaciones en los consumidores.

Un **brote epidémico** se produce cuando dos o más individuos manifiestan la misma enfermedad, presentan los mismos síntomas tras estar expuestos a un mismo vehículo o tóxico. En el caso de enfermedades transmitidas por alimentos, el brote implica que esas personas han ingerido un alimento común.

Los objetivos de la investigación epidemiológica que se realiza ante todo brote o situación epidémica son:

- Conocer la extensión y magnitud del brote
- Identificar los alimentos/agua implicados
- Conocer los agentes causales y la fuente de contaminación
- Determinar los factores que contribuyeron a la presencia, crecimiento y supervivencia de los agentes etiológicos
- Adoptar las medidas necesarias y oportunas que eviten la distribución, venta o consumo del alimento implicado.

En la tabla 16 se observa el cuadro de períodos de incubación y síntomas de las infecciones e intoxicaciones más frecuentes.

Tabla 16. Cuadro de períodos de incubación y síntomas de las infecciones e intoxicaciones más frecuentes.

Microrganismo o tóxico	Período de Incubación	Síntomas principales
<i>Staphylococcus aureus</i>	30 m – 7 h. (media 2-4 h.)	Vómitos, náuseas, dolor abdominal, diarrea e hipotensión. Comienzo brusco.
Histamina (escombroides)	menos de 1 h.	Dolor de cabeza, náuseas, vómitos, sudoración y calor.
<i>Bacillus cereus</i>	6 – 24 h. Cuadro diarreico 1 – 6 h. Cuadro emético	Vómitos, náuseas (ent. termoestable), diarrea, dolor abdominal, no fiebre (ent. termolábil).
<i>Clostridium perfringens</i>	2 – 36 h. (media 6-12 h.)	Cólicos y náuseas, seguidos de diarrea, no fiebre y no vómitos.
<i>Salmonella</i>	6 – 72 h. (media 12-36 h.)	Diarrea, fiebre alta, dolores abdominales, vómitos y cefalea.
<i>E. coli</i>	16 – 48 h.	Fiebre, dolor abdominal y diarrea.
<i>E. coli</i> 0157	72 – 120 h.	Diarrea sanguinolenta, fiebre.
<i>Shigella</i>	12 – 96 h. (media 24-72 h.)	Fiebre, diarrea mucosanguinolenta, vómitos y tenesmo.
Virus entéricos	3 – 5 días	Diarrea, febrícula, dolor abdominal y síntomas respiratorios.
<i>Clostridium botulinum</i>	2h. – 6días (media 12-36h.)	Vértigo, visión borrosa o doble, pérdida de reflejos, parálisis respiratoria.
<i>Campylobacter jejuni</i>	1 – 10 días (media 3-5d.)	Diarrea, dolor abdominal, malestar, fiebre, vómitos.
Vibrio parahemolítico	4 – 96 h. (media 12-24 h.)	Diarrea acuosa y dolor abdominal, a veces fiebre, náuseas, vómitos y cefalea.
Amebiasis	2 – 4 semanas	Cuadro disentérico o cuadro leve.
Hepatitis A	15 – 50 días	Fiebre, anorexia, náuseas, ictericia.
Brucelosis	5 – 60 días	Fiebre continua o intermitente, cefalalgia, debilidad, escalofríos, artralgias, pérdida de peso.

Muchas veces el agente causal de una toxiinfección no se identifica, bien sea por el hecho de ser producida por un patógeno desconocido, o bien, por un patógeno conocido pero no identificado como agente de producir este tipo de enfermedades. Con el paso de los años muchos patógenos han sido identificados como causas importantes de brotes alimentarios como *E. coli* enterohemorrágico, *Campylobacter jejuni* y *Listeria monocytogenes* entre otros (Doyle, 1992).

Las infecciones e intoxicaciones alimentarias colectivas (TIAC) resultan siempre de una sucesión de hechos de higiene dependientes de la cadena alimentaria, unidos a la contaminación del alimento y a la realización de circunstancias favorables a la multiplicación bacteriana (Buisson, 1992).

Hay muchos brotes de salmonelosis y shigelosis atribuidos al incremento en la demanda de frutas frescas y vegetales en esta nueva década (Hedberg, 1994).

Las enfermedades de origen microbiano y de transmisión alimentaria son en la actualidad de índole universal, tanto desde el punto de vista de la salud pública como desde el económico.

En Japón se produjo un brote de *Escherichia coli* enterohemorrágico (serotipo O157:H7) en la ciudad de Sakai, que afectó a un total de 6309 escolares y a 92 miembros del personal escolar por la ingestión de brotes de rábano fresco que se consumen crudos (B.E.S., 1996).

En EEUU se presentan del orden de 12,6 a 81 millones de casos anuales de enfermedades diarreicas, que provocan un coste estimado entre 1.900 y 18.400 millones de dólares anuales de pérdidas, incluyendo gastos de hospitalización, atención médica, pérdida de horas de trabajo, etc.

Un estudio piloto llevado a cabo en los Países Bajos demuestra que un sistema de vigilancia alerta es factible para el registro de algunos brotes de toxiinfección. Cada año *Salmonella* causa 12000 casos por millón de enteritis, donde

se implican a los productos de aves de corral como una importante fuente de contaminación.

En Francia y en los países angloamericanos las *Salmonella* representan de un 50 hasta un 90% de las infecciones e intoxicaciones colectivas de origen alimentario (Brücker, 1994).

En España, desde que en 1982 se incluyeron las infecciones e intoxicaciones alimentarias (TIA) entre las Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO) se han producido un incremento en el número de brotes notificados.

En cuatro de los cinco brotes de infecciones e intoxicaciones alimentarias del período de los juegos olímpicos de Barcelona 1992 en los que se identificó el agente causal y al igual que en el período previo, el agente fue *Salmonella enteritidis*. El tipo de alimento implicado fueron los huevos, la mahonesa y el pollo los más frecuentes. Aunque no hubo aumentos en el número de brotes declarados, la mayor notificación de los servicios de urgencia hospitalarios permitió disminuir el período de demora en la declaración, aunque ello no supuso una mejora del proceso de investigación, en la medida en que no se modificó el número de muestras de alimentos sospechosos recogidas ni en el número de encuestas realizadas ni en el número de agentes y factores facilitadores identificados (Pañella, 1995).

En la Vuelta Ciclista a España de 1995 se produce un brote de toxiinfección alimentaria en componentes de varios equipos alojados en el mismo hotel con un total de 56 afectados. En la cena tomaron salsa boloñesa, a la cual se le atribuye el brote y donde contribuyó la manipulación y conservación en cámara frigorífica a una temperatura de 12,5°C. El período de incubación, la sintomatología y los datos de laboratorio indican una infección por *Clostridium perfringens*.

En la Comunidad Autónoma de Canarias se ha producido una evolución irregular, aunque con una tendencia al descenso, del número de casos de infecciones e intoxicaciones alimentarias debido a una mejora en el control de los productos alimenticios, así como en la manipulación de los alimentos.

En los años 1996 y 1997 se observa un aumento de los casos, dos de ellos afectó a más de 100 afectados, en uno de ellos se afectaron alumnos de 5 colegios en una intoxicación por estafilococos.

En el trienio 1996-1998, los principales agentes causantes de infecciones e intoxicaciones alimentarias en Canarias fueron *Salmonella* y *Staphylococcus spp.* Los grupos de alimentos que provocan el mayor número de brotes de infecciones son las mayonesas de elaboración casera, así como otros derivados del huevo y quesos.

II.2.9. ANÁLISIS DE PELIGROS Y PUNTOS DE CONTROL CRÍTICO

Se establece así el control higiénico-sanitario de las industrias alimentarias con el **SISTEMA APPCC-HACCP**.

Los alimentos durante su ciclo de vida están expuestos a numerosas contaminaciones de diferente naturaleza: física, química o microbiológica, siendo esta última la que se dan con mayor frecuencia. Las bacterias son los microorganismos con mayor importancia en la higiene y seguridad alimentaria, aunque los hongos poseen también un papel importante.

Cualquier alimento puede ser portador de microorganismos; en función del tipo de microorganismos las consecuencias pueden pasar por la alteración de las características organolépticas al caso más extremo que sería la producción de una toxiinfección alimentaria.

Los microorganismos están presentes de forma natural, en el medio ambiente así como en todos los seres vivos. Las fuentes de contaminación de los alimentos por microorganismos son diversas, a través del agua, aire, durante el proceso de elaboración por la maquinaria utilizada, por las superficies, por el personal manipulador... Por lo tanto, la carga microbiana total de un alimento va a depender de la suma de todos los procesos anteriores.

Producir alimentos seguros para el consumo es una exigencia que no permite discusión. No debemos considerar la higiene de los alimentos un factor de calidad sino una necesidad.

Cada día es más común que el alimento que llega a nuestros hogares haya sido producido en alguna parte del mundo, lo mismo ocurre con las materias primas; esto hace que estos tránsitos alimentarios se realicen de forma que garanticen la seguridad en origen.

Los escasos intentos por controlar la calidad higiénico-sanitaria de los alimentos se han venido basando en el método analítico del producto final, pero esto tiene sus inconvenientes:

1. Dificultad para tomar muestras significativas.
2. Métodos lentos.
3. No podemos almacenar alimentos esperando resultados.
4. Solo contempla contaminación microbiológica, excluyendo contaminación físico-química.
5. Solo identifica las consecuencias y no las causas.

En 1987 surgieron en España los Sistemas de Calidad, en forma de las denominadas *Normas de la Serie ISO 9000*, muy generales y que sirven para todo tipo de empresas. Actualmente se habla del *Sistema de Calidad Total*, donde el concepto de calidad adquiere su más amplio significado abarcando a todas las actividades de las empresas.

La Directiva 89/397/CEE del Consejo de 14 de junio relativa al *control oficial de los productos alimenticios*, estableció los principios generales para la realización de la inspección, toma de muestras y análisis de los productos alimenticios destinados al consumo humano, que fue incorporada al ordenamiento jurídico español mediante el Real Decreto 50/1993, de 15 de enero, que regula el *control oficial de los productos alimenticios*, complementando al Real Decreto 1945/1983, de 22 de junio, *sobre infracciones y sanciones en materia de defensa del consumidor y de la producción agroalimentaria*.

Hoy en día se está presenciando un cambio en los sistemas de inspección, con la Directiva 93/43/CEE y, sucesivamente, con la publicación del ***Real Decreto 2207/1995, por el que se establecen las normas de higiene relativas a los productos alimenticios***, se abren nuevos planteamientos buscando un mayor nivel de seguridad y salubridad de los productos alimenticios. Se pretende mejorar el grado de higiene de los alimentos, garantizando una mayor protección de la salud humana, así como un nuevo enfoque del control de las industrias alimentarias y una nueva valoración de las exigencias contenidas en anteriores disposiciones.

Este Real Decreto estipula que las empresas del sector alimentario son las responsables de la higiene en sus establecimientos, por lo que deben realizar actividades de AUTOCONTROL(basándose en el análisis de riesgos y control de puntos críticos).

Se define a la empresa del sector alimentario a cualquier empresa, con o sin fines lucrativos, ya sea pública o privada, que lleve a cabo cualquiera de las actividades siguientes: preparación, fabricación, transformación, distribución, manipulación y venta o suministro de productos alimenticios.

La Directiva 93/94 en su artículo 6 menciona las normas europeas de la serie EN 29000 equivalentes en todas sus variantes con las normas ISO 9000. Con esto se responsabiliza a las empresas para que fabriquen o produzcan mercancías que respondan a estándares de calidad predeterminados y que esta calidad puede ser garantizada y mejorada constantemente. El apoyo de estas normas hace que el sistema HACCP sea más efectivo.

En la tabla 17 se observan las normas ISO 9000 y similares, sobre definición y gestión de calidad.

Tabla 17. Normas ISO 9000 y similares.

ISO 9000	EN 29000	UNE 66900	Aspectos que cubren
ISO 9000	EN 29000	UNE 66900	Documento general: directrices para seleccionar y utilizar las normas.
ISO 9001	EN 29001	UNE 66901	Modelo para el aseguramiento de la calidad en el diseño/desarrollo, la producción, las instalaciones y el servicio post-venta.
ISO 9002	EN 29002	UNE 66902	Modelo para el aseguramiento de la calidad en la producción e instalaciones.

ISO 9003	EN 29003	UNE 66903	Modelo para el aseguramiento de la calidad en la inspección y los ensayos finales.
ISO 9004	EN 29004	UNE 66904	Gestión interna de la calidad y elementos de un sistema de calidad. Reglas generales.

El HACCP es un sistema preventivo de control de los alimentos cuyo objetivo es la seguridad o inocuidad alimentaria.

El ARPC (Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos) es la traducción al castellano del HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point), traducción no muy acertada pues está llevando a crear una cierta confusión. Según algunos autores no se ha realizado una traducción correcta de la terminología inglesa proponiendo otra traducción como “completo estudio del peligro sanitario para la adecuación de las medidas esenciales controlables” (León, 1996).

Con el RD 202/2000, de 11 de febrero, por el que se establecen las normas relativas a los manipuladores de alimentos son las empresas del sector alimentario las que deben asumir la responsabilidad de desarrollar programas de formación en cuestiones de higiene de los alimentos.

El sistema de autocontrol conocido hasta hoy, en español como *análisis de riesgos y control de puntos críticos* se sustituye a la entrada en vigor de este real decreto (25 de agosto de 2000, seis meses de su publicación en el Boletín Oficial del Estado) por la expresión *análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC)*, para mantener una homogeneidad con la terminología adoptada en el marco internacional.

Hay unos principios generales que son los siguientes:

1) Análisis de peligros e identificación de riesgos.

Análisis de la contaminación, proliferación o supervivencia inaceptable de microorganismos sobre los alimentos, así como de posible contaminación físico-química, que puede afectar a la inocuidad del alimento.

Los riesgos aumentan con el nivel de contaminación y se pueden producir tanto por un aporte inicial como por la contaminación posterior de la materia prima, así como por una higiene incorrecta del personal, de los locales, del proceso de manipulación o de la distribución.

Evaluación de la gravedad de estos peligros, como la magnitud o la importancia de las consecuencias que pueda producir dicho peligro.

La determinación o identificación de los riesgos se lleva a cabo con ayuda de los conocimientos sobre el propio alimento y los datos o información epidemiológica sobre el mismo (Moreno, 1994).

Una vez identificado un riesgo debe ser establecidas una serie de medidas que eviten dicho riesgo.

2) Determinación de los puntos de control crítico.

Entendiendo por puntos de control críticos los lugares, prácticas, procedimientos o procesos en los que se producen los riesgos y donde puede ejercerse control, de forma que ese riesgo pueda ser eliminado o reducido a un nivel aceptable.

Se viene distinguiendo, según su eficacia, entre PCCs1 y PCCs2. Los primeros son muy específicos, cuantificables, y suponen tal grado de confianza que puede firmarse un documento de garantía diciendo que no existe un determinado riesgo o peligro en relación con ese alimento. En cambio los PCCs2 son menos específicos, el control que puede ejercerse en ellos es mucho menos eficaz y muchas veces no son cuantificables, ya que su medida depende de la persona, es una observación visual; por esto no puede firmarse un documento de garantía (Moreno, 1994).

3) Especificación de criterios.

Entendiendo por criterio, los valores límite o características de naturaleza física (temperatura, tiempo, humedad, etc.), química (concentración de ácido acético,

etc.), biológica o sensorial, que indiquen si una operación está controlada en un determinado punto de control crítico.

Y además, establecemos unos límites, para ver si el riesgo está bajo control o no.

4) Vigilancia.

La vigilancia comprende la observación, la medición y/o el registro sistemático de factores de importancia para controlar el riesgo.

Los sistemas de vigilancia pueden ser continuos (proporcionan información en tiempo real) o periódicos (debe de especificarse la frecuencia) y aplicarse en la propia línea de procesado (“*on line*”) o fuera de ella (“*off line*”).

5) Aplicar medidas correctoras apropiadas.

Cuando los resultados de las comprobaciones de los puntos críticos de control indiquen que no satisfacen los criterios de inocuidad y salubridad establecidos.

6) Verificación.

Empleo de información suplementaria y de pruebas apropiadas para cerciorarse que el sistema funciona.

En todo proceso de verificación debe tenerse muy presente que el sistema APPCC descansa en tres elementos fundamentales y son éstos los que hay que valorar y comprobar:

- ✓ Control eficaz de los puntos críticos marcados, y que son fundamentales para garantizar la seguridad de los productos, ya que de no ser así se puede originar un riesgo sanitario en el alimento.
- ✓ Veracidad y fiabilidad de los registros, ya que constituyen la base documental que permite el autocontrol por parte de la empresa y también el control por parte de las autoridades competentes.
- ✓ Eficacia de las medidas correctoras adoptadas, si así ha sido necesario en alguna fase, las cuales deben asegurar que se elimina y controla el riesgo presentado.

7) Sistema de registro y documentación.

Antes de la realización de estos principios generales hay que llevar a cabo un trabajo preparatorio para definir las personas que trabajarán en el sistema, qué productos se estudiarán, elaboración de diagramas de flujo en cuanto a la fabricación y elaboración de un producto... etc. (Moreno, 1996).

El sistema HACCP se basa en el análisis de las causas que pueden hacer que un alimento sea inseguro para el consumo humano, es decir que “peligros” puede haber en el consumo habitual de los alimentos. La valoración que posteriormente hacemos de estos peligros, particularizándola para cada alimento es lo que consideramos como “riesgo”.

Los programas HACCP que han de hacer las industrias de alimentos para cumplir con la normativa española y comunitaria serán incompletos si únicamente incluyen en ellos los riesgos biológicos, principalmente los microbiológicos, ya que existen otros tipos de riesgos que pueden afectar a la salud de los consumidores (Moreno, 1994).

Así un peligro puede ser cualquier factor biológico, químico o físico que pueda causar una alteración inaceptable de la salud del consumidor o que haga que un alimento no sea apto para el consumo.

Existen otros factores que no afectan directamente a la salud del consumidor pero si crean su rechazo hacia el alimento (por ejemplo, un pelo en la comida). Este matiz nos hace diferenciar entre dos tipos de peligros: aquellos que afectan directamente a la seguridad o salubridad de los alimentos, es decir, un alimento es sanitariamente seguro cuando no puede ser causa de alteración de la salud de quien lo consume; y aquellos peligros que afectan a la higiene de los alimentos, serían factores cuya presencia en los alimentos indicaría una incorrecta elaboración o manipulación.

Así Moreno (1994) clasifica los riesgos químicos en tres grandes grupos que son los siguientes:

1. Riesgos químicos debidos a sustancias presentes en estado natural en los alimentos.
2. Riesgos químicos que presentan los alimentos como consecuencia de la adición directa de sustancias y de su utilización en producción animal y vegetal.
3. Riesgos que presentan los alimentos como consecuencia de la contaminación ambiental, del uso de las sustancias correspondientes en las industrias de alimentos y de los propios envases.

Hay diferencia entre el peligro y el riesgo, el primero es global para todos los alimentos y el segundo es específico para cada alimento y fase.

En la identificación de los riesgos hay factores intrínsecos que son aquellas características propias del alimento que determinan la posibilidad de crecimiento microbiano, entre los que tenemos la composición del alimento, el pH, actividad del agua, ácidos orgánicos, conservantes etc. Y los factores extrínsecos son las características de la fase en la que se está identificando el riesgo, como factores ambientales, factores humanos y de las instalaciones (Bryan, 1992).

Al establecer puntos de control críticos solo puede haber de un tipo, aquellos que garanticen el control de un riesgo, no obstante en una instalación existen numerosos puntos que son importantes para mejorar la higiene de los alimentos o para cumplir con unos requisitos de calidad establecidos pero que no son puntos de control críticos.

En una instalación en la que se elabora un solo tipo de producto es relativamente fácil localizar e incluso controlar los puntos de control críticos, el problema se plantea en instalaciones donde se generan un elevado número de alimentos de origen y composición muy variada. Como pasa en un comedor colectivo en donde diariamente se generan menús diferentes, entonces no podemos elaborar un diagrama de flujo para cada producto final, sería casi imposible puesto que tendríamos tantos como platos, por lo que debemos unificar los puntos de control críticos en aquellos procesos comunes a diferentes elaboraciones.

Se dan algunos ejemplos de puntos críticos de control en la guía de Bryan (1992) como los siguientes: calidad microbiológica de las materias primas e ingredientes, pasteurización, esterilización, cocinado, conservación en refrigeración, recalentamiento, limpieza de equipos, etc. son unos cuantos entre otros muchos.

Si estos puntos están controlados no generamos un riesgo y de la misma manera gracias al control sabremos cuando estaremos generando un riesgo y tomaremos las medidas correctoras necesarias para que dicho alimento no llegue al consumidor. Por lo tanto, lo que nos caracteriza al control es la posibilidad de reacción, de nada nos vale un control que nos indique una desviación cuando el alimento esta ya en manos del consumidor.

Una medida correctora iría desde el rechazo del producto en su acción más extrema hasta la reiniciación del proceso o bien asumir dicho riesgo y controlarlo en otra etapa. La medida correctora se realiza directamente sobre el alimento.

Luego viene la vigilancia (monitorización) con el objeto de conocer si las medidas preventivas se encuentran dentro de los parámetros marcados como límites, para que en caso de haber superado dichos límites tomar las medidas correctoras necesarias para evitar que el riesgo generado llegue al consumidor.

Un parámetro sin el cual la vigilancia no tiene ningún sentido, es la frecuencia con que se va a realizar la vigilancia, es decir los períodos de tiempo en los que se va a hacer.

Sólo pueden ser válidos métodos de control rápidos que nos permitan reaccionar ante la superación de un límite crítico. Según el ICMSF (Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1991), los sistemas o métodos de comprobación, vigilancia o monitorización de los puntos de control críticos son de cinco tipos:

- ◆ Observación visual
- ◆ Valoración sensorial
- ◆ Determinaciones físicas

- ◆ Análisis químico
- ◆ Análisis microbiológico

Uno de los pilares sobre los que se sustenta el sistema HACCP es el de registrar absolutamente todos los procesos de elaboración y control de los mismos. Normalmente se hace por medio de hojas de control, realizado manualmente por la persona responsable de la vigilancia.

Todo sistema HACCP debe ser verificado para garantizar su eficacia. Esto puede hacerse por medio de una analítica tradicional o por una auditoría de verificación; recopilando información, procesándola y elaborando un documento escrito. Hay que hacer una verificación del sistema con los proveedores en cuanto a los controles de las materias primas, también una verificación de la eficacia de la limpieza y desinfección, una verificación analítica físico-química o microbiológica de productos finales y una calibración periódica de instrumentos de medida entre otros.

Para aplicar HACCP no basta con seguir un método, es necesario haber formado al personal y estar dotados de la tecnología mínima para poder ejercer un control real en los determinados puntos de control críticos. Esta aplicación debe comenzar por aquellos procesos que nos generen riesgos más graves para la salud humana. Si en el caso de aplicar el sistema encontramos algún problema en alguna fase o etapa, será necesario proceder a su modificación.

Se hace necesario mantener día a día el sistema de manera que siempre pueda tenerse en cuenta la aparición de nuevos peligros generadores de algún riesgo. Para ello es necesario actualizar conocimientos por parte de los técnicos de HACCP y la formación continuada del personal.

En muchos casos, la alteración de los alimentos (principal causante de enfermedades de transmisión alimentaria) es fruto de la negligencia o de los malos hábitos del personal manipulador. Para evitarlo, es esencial conseguir por un lado la concienciación (implicación del personal en asegurar un correcto control de todos los

procesos) y por otro la formación (adquisición de conocimientos básicos que ayuden a evitar enfermedades de transmisión alimentaria). Si se consiguen ambas, estaremos consiguiendo personal con una alta educación sanitaria, esencial en la aplicación y el desarrollo del HACCP.

Todo el personal trabajador debe comprender y ser consciente que la seguridad de los productos alimenticios que está manipulando o procesando depende, en parte, de su forma de hacerlo. Se debe de haber elaborado previamente un *Manual de Buenas Prácticas de Fabricación* donde se especifica la forma adecuada de trabajar del personal y donde se describe las posibles medidas preventivas ante peligros identificados. Y muy importante es la limpieza y desinfección, elaborando un plan específico para cada zona de trabajo con instrucciones claras y concretas (Valcárcel, 1996).

El manual de las *Buenas Prácticas de Fabricación* debe recoger los métodos a seguir para elaborar correctamente los productos alimenticios y desarrollar cada una de las tareas relacionadas con la manipulación de los productos, desde su llegada a la empresa hasta su distribución.

El objeto del *programa de limpieza y desinfección* es disponer de un documento en donde se desarrollen cada uno de los procesos de limpieza que se consideran necesarios para mantener los equipos y locales con un grado adecuado de limpieza.

El *plan de desinsectación y desratización* debe incluir medidas preventivas tendentes a impedir la presencia de insectos y roedores en los establecimientos y medidas urgentes de erradicación en caso de que se detecte la presencia de estos animales en el interior de la industria.

Las *prácticas de manipulaciones* suponen un requisito imprescindible para controlar uno de los puntos que presenta mayor riesgo de contaminación de los productos; hay que tener muy presente que todas las personas que manipulan los alimentos son responsables, frecuentemente, de la contaminación microbiana.

II.2.10. HIGIENE DEL MANIPULADOR.

II.2.10.1. GENERALIDADES

La población, en general, manifiesta una preocupación constante por la salubridad de los alimentos que consume. Aunque los alimentos aportan al individuo los nutrientes necesarios para el mantenimiento de sus funciones vitales, también pueden transmitir microorganismos, toxinas y contaminantes peligrosos para su salud. Algunos de estos elementos pueden encontrarse en los alimentos en el momento de su obtención, pero otros se incorporan durante las manipulaciones a que son sometidos antes de llegar al consumidor.

Las personas que recolectan, sacrifican, transportan, almacenan, procesan o preparan son responsables frecuentemente de la contaminación microbiana de los alimentos. Los manipuladores de alimentos que son infectados o colonizados por agentes patógenos pueden contaminar los alimentos que tocan. Cualquier manipulador de alimentos puede transferir agentes patógenos desde los alimentos crudos a los alimentos que no serán calentados posteriormente para asegurar su inocuidad (ICMSF, 1988).

La contaminación cruzada entre productos crudos y cocinados se ha identificado como una causa importante de las infecciones en los servicios de alimentación. Estas infecciones a veces se producen por una higiene deficiente, por unos riesgos mal controlados, por una mala organización en la limpieza o por una falta de formación de los profesionales (CESNID, 1999).

Los alimentos crudos se contaminan frecuentemente con agentes patógenos transmitidos por los alimentos que contaminan fácilmente las manos de las personas que los manipulan y que son transferidos a paños y toallas que establecen contacto con los alimentos o con las manos. Las manos, por lo tanto, deberán ser lavadas completamente después de manipular alimentos crudos.

Como *Staphylococcus aureus* y algunos otros microorganismos no pueden ser eliminados completamente lavándose las manos ni son destruidos totalmente por medio de los desinfectantes, los alimentos cocinados no serán tocados si se desea evitar su contaminación, que puede reducirse a un mínimo usando utensilios limpios, tales como tenedores, cucharas o pinzas, en lugar de las manos (ICMSF, 1988).

Los guantes y los recubrimientos de plástico pueden constituir una barrera entre los alimentos y las bacterias residentes, las lesiones infectadas o los vendajes sobre las manos. Sin embargo, pueden encontrarse tan contaminados como las manos sino se lavan con la frecuencia y perfección que éstas. *Staphylococcus aureus* se acumula cuando las manos transpiran entre los guantes y pueden multiplicarse sobre éstas durante períodos prolongados de tiempo. Los guantes se recomiendan para manipular alimentos congelados y también cuando las manos experimentan una inmersión prolongada en soluciones detergentes calientes (ICMSF, 1988; Hobbs, 1993).

El lavado completo de las manos con formación de espuma y el posterior aclarado puede eliminar muchos agentes patógenos no permanentes que se transmiten con los alimentos. Las manos serán humedecidas bajo una corriente de agua caliente que no queme, se enjabonarán y se frotarán vigorosamente una con otra durante 15 segundos como mínimo. Después serán aclaradas y secadas con una toalla de papel de un solo uso (ICMSF, 1988).

Las investigaciones de la flora bacteriana de las manos antes y después de lavarlas con agua y jabón, solo o con un tratamiento antiséptico temporal, demostró que el lavado únicamente con agua y jabón resultaba efectivo para eliminar, o al menos reducir el número, de coliformes y otros microorganismos intestinales Gram negativos recogidos de los alimentos (Hobbs, 1993).

En un estudio realizado por Fábrega y colaboradores (1997) al analizar las manos de manipuladores de comedores colectivos y comercios minoristas se observó que al aplicar una limpieza profunda con agua caliente, jabón y cepillo de uñas en éstas, en los primeros se observa un 100% de cumplimiento de la legislación,

mientras que en los segundos los valores de contaminación iniciales disminuyen, si bien no se consigue mejorar el porcentaje de cumplimiento. Estos resultados pueden atribuirse a la dificultad de asimilar la meticulosidad con que deben lavarse las manos.

Los alimentos que permiten con facilidad el crecimiento de estafilococos, tales como carnes curadas y cocinadas sin curar, cremas, productos marinos cocinados y otros artículos no serán ingeridos sin un tratamiento térmico ulterior, e idealmente no serán tocados con las manos (Hobbs, 1993).

Las manos pueden ser responsables de:

- a) transferencia de patógenos intestinales como salmonelas, campilobacterias y *E.coli* desde los alimentos crudos y utensilios, así como también de materia fecal, a los alimentos cocinados, y
- b) transferencia de microorganismos de fosas nasales y piel, tales como estafilococos, desde la persona del manipulador de alimentos al alimento cocinado.

Las recomendaciones para evitar estos riesgos incluyen:

- I. Las manos deberán lavarse no solamente después de utilizar el WC sino también con cuidado entre la manipulación de alimentos diferentes y en especial tras tocar productos crudos;
- II. En cuanto sea posible, los alimentos cocinados no serán tocados con las manos desnudas, porque incluso las manos lavadas pueden no estar libres de estafilococos;
- III. Ningún operario que presente lesiones sépticas sobre cualquier zona corporal deberá trabajar con alimentos susceptibles. Abrasiones y cortes limpios, no supurativos, se cubrirán con un apósito (Hobbs, 1993).

El pelo de la cabeza, cara o brazos, aunque algunas veces aparece contaminado por *Staphylococcus aureus* y otras bacterias, constituye una fuente menor de contaminación microbiana directa de los alimentos. La acción de tocarlo, el peinado y cepillado del pelo transfiere probablemente más microorganismos a los

alimentos a través de las manos que una hebra de pelo que cae en el alimento. Sin embargo, la presencia de pelos en los alimentos resulta desagradable. Por consiguiente, la estética más que la inocuidad de los alimentos impone el uso del cubrecabezas en zonas donde se preparan alimentos.

Los operarios pueden llevar mascarillas faciales en operaciones críticas de manipulación en algunos establecimientos donde se procesan alimentos. Aunque son barreras eficaces frente a la contaminación transmitida por el aire, no resultan prácticas para la mayoría de las operaciones de procesado y servicio de alimentos, pues al tocarlas pueden contaminar a los alimentos con mayor intensidad que lo harían los microorganismos expulsados de la nariz y de la boca. La transmisión a través del aire suele tener una importancia relativamente menor en la contaminación de los alimentos.

La ropa, particularmente la confeccionada con materiales absorbentes (lana) puede acumular microorganismos y residuos de alimentos. El cambio y lavado periódico de la ropa reduce el riesgo de contaminación. La ropa y los delantales de colores claros permiten identificar los elementos sucios y la necesidad de cambiarlos.

Las acciones de comer, fumar y masticar mientras se manipulan alimentos son estéticamente inaceptables y aumentan las probabilidades de que se transfieran microorganismos con las manos, procedentes de los labios y de la boca, a los alimentos.

Una buena higiene personal, tal como duchas o baños regulares, lavado periódico del pelo y lavado frecuente de las manos, reduce generalmente la probabilidad de contaminación.

Los microorganismos patógenos transportados por los alimentos pueden proceder de personas infectadas en situaciones diversas, como durante el período de incubación no se muestra una enfermedad apreciable, la prevención depende de los hábitos de higiene en los aseos y particularmente de un lavado cuidadoso de las manos.

Durante la enfermedad aguda, la mayoría de las bacterias y de los virus que provocan enfermedades entéricas se eliminan en gran número con las heces y en algunas enfermedades también con la orina. Los microorganismos proceden excepcionalmente del aparato respiratorio. Las personas afectadas de salmonelosis pueden eliminar hasta 10^9 salmonelas por gramo de heces durante esa fase. En este período el enfermo está en un estado conocido como *portador*, eliminando microorganismos. Los portadores a largo plazo (más de un año) de *Salmonella typhi* son más corrientes en personas de edad y en enfermos de vesícula biliar. No deben emplearse portadores en instalaciones donde se manipulen alimentos (ICMSF, 1988).

Los agentes patógenos pueden eliminarse de forma intermitente en las formas crónicas de las enfermedades. La prevención resulta difícil. Los casos de infección crónica con microorganismos virulentos no deberán manipular alimentos hasta que al menos tres exámenes bacteriológicos consecutivos hayan resultado negativos.

Los reconocimientos clínicos de los trabajadores y/o la recogida de muestras pueden ser esenciales durante las investigaciones de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. En los brotes de intoxicación alimentaria por estafilococos, la tipificación por fagos de las cepas o cultivos procedentes de las fosas nasales y de las lesiones cutáneas de los trabajadores pueden ayudar a identificar la fuente de la contaminación. En brotes de salmonelosis, shigelosis y diarrea por *Escherichia coli*, las muestras de heces o los frotis rectales procedentes de los manipuladores de alimentos pueden identificar algunas veces la fuente de la contaminación.

II.2.10.2. LEGISLACIÓN DE MANIPULADORES DE ALIMENTOS

RD 2505/1983, de 4 de agosto, por el que se aprueba el Reglamento de Manipuladores de Alimentos (BOE nº 225, de 20 de septiembre de 1983).

Los manipuladores de alimentos serán todas aquellas personas que por su actividad laboral entren en contacto directo con los mismos por los siguientes supuestos:

- 1) Distribución y venta de los productos frescos sin envasar.
- 2) Elaboración, manipulación y/o envasado de alimentos o productos alimenticios en los que estas operaciones se realicen de forma manual, sin posterior tratamiento que garantice la eliminación de cualquier posible contaminación proveniente del manipulador.
- 3) Preparación culinaria y actividades conexas de alimentos para consumo directo sin envasar, tanto en hostelería y restauración, como en cocinas y comedores colectivos.

Todo el personal debe poseer el carnet de manipulador. Para obtenerlo deben de cumplimentar un cuestionario sobre materias relacionadas con la higiene en la manipulación de alimentos facilitado por el Ministerio de Sanidad y Consumo en su dirección de área de Salud Pública. En el caso de no superara el mismo realizaran un cursillo de educación sanitaria para adquirir los conocimientos necesarios.

El carnet tendrá una validez de cuatro años siendo personal e intransferible.

Deben mantener una higiene personal con la indumentaria adecuada y exclusiva para el lugar de trabajo. Siempre deben lavarse las manos con agua caliente y jabón o detergente tantas veces como lo requieran las condiciones del trabajo y siempre antes de incorporarse a su puesto de trabajo después de ausentarse de él. Deben protegerse las lesiones cutáneas con vendajes impermeables.

El manipulador aquejado de enfermedad de transmisión por vía digestiva o que sea portador de microorganismos debe ser excluido de toda actividad directamente relacionada con los alimentos hasta su total recuperación.

Queda totalmente prohibido al manipulador durante su actividad:

- 1) fumar y masticar chicle
- 2) comer en el puesto de trabajo

- 3) utilizar prendas de trabajo distintas a las reglamentarias
- 4) estornudar o toser sobre los alimentos
- 5) y cualquier otra actividad que pueda ser causa de contaminación de alimentos

RD 202/2000, de 11 de febrero, por el que se establecen las normas relativas a los manipuladores de alimentos (BOE nº 48, de 25 de febrero de 2000).

Las empresas del sector alimentario deben asumir la responsabilidad de desarrollar programas de formación en cuestiones de higiene de los alimentos.

El sistema de autocontrol conocido hasta hoy, en español como *análisis de riesgos y control de puntos críticos* resulta oportuno sustituir esta expresión para mantener una homogeneidad con la terminología adoptada en el marco internacional por *análisis de peligros y puntos de control crítico*.

La formación y supervisión de los manipuladores de alimentos, estarán relacionadas con la tarea que realizan y con los riesgos que conllevan sus actividades para la seguridad alimentaria. Para ello, la empresa incluirá el programa de formación de los manipuladores de alimentos en el Plan de análisis de peligros y puntos de control crítico o lo aplicará como instrumento complementario de las guías de prácticas correctas de higiene.

Los programas de formación se deberán desarrollar e impartir por la propia empresa o por una empresa o entidad autorizada por la autoridad sanitaria competente.

A partir de la entrada en vigor del presente Real Decreto (seis meses de su publicación en el Boletín Oficial del Estado) queda derogado el Real Decreto 2505/1983, de 4 de agosto, por el que se aprueba el Reglamento de manipuladores de alimentos, así como otras disposiciones de igual o inferior rango que se opongan a lo establecido en el mismo.

II.2.11. HIGIENE DE LOS LOCALES. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN.

II.2.11.1. GENERALIDADES.

Los locales e instalaciones deberán ser apropiados para el uso a que se destinan, con emplazamiento y orientación adecuados, con accesos fáciles; serán de dimensiones suficientes, acordes con el trabajo que en los mismos se realiza.

En el interior de los locales se pueden producir situaciones que incrementen el aporte de microorganismos o favorezcan la multiplicación de los ya existentes. Las causas más habituales que generan estas situaciones son (CESNID, 1999):

- Contacto de unos alimentos con otros. Hay que recordar que puede transmitirse olores de unos alimentos a otros sin haber contacto. Hay que separar los alimentos contaminantes físicamente en lugares distintos o en recipientes cerrados.
- Suciedad en paredes, suelos o estanterías. Hay que prever una limpieza eficiente de estos lugares, así como materiales y estanterías adecuadas.
- Mala organización, sobrecarga de productos, productos mal colocados o no protegidos del suelo, etc.
- Ambiente: contaminación del aire (por una ventilación irregular, aberturas no protegidas, etc.).
- Refrigeración deficiente.
- Almacenamiento demasiado prolongado.

En los servicios de alimentación la limpieza y desinfección deben considerarse como un proceso más en la producción del establecimiento, ya que influye sobre la calidad del producto final que se elabora. No se debe descuidar pues la limpieza o relegarla a un segundo plano dentro de las tareas del servicio de alimentación.

La limpieza debe eliminar las suciedades y los restos de alimentos que quedan sobre las superficies, ya que favorecen el desarrollo de microorganismos y, además, dificultan la acción de los desinfectantes al neutralizarse y/o diluirlos.

Las fases que componen la operación de limpieza son: desprendimiento de la suciedad de la superficie u objeto, eliminación posterior con un producto detergente y aclarado final. El aclarado es importantísimo, se debe realizar con agua clara corriente, a una temperatura de +60 a +65°C. La utilización de una ducha a presión es ideal para la tarea. El agua caliente es antimicrobiana y facilita el secado.

La limpieza puede realizarse mediante tres procesos: físicos, químicos o biológicos.

Los físicos consisten en la eliminación de los restos por agua o acción mecánica, los químicos en limpiar mediante un producto detergente, y los biológicos en eliminar los microorganismos (bacterias y hongos) por un producto desinfectante.

En las operaciones de limpieza se debe evitar sacar el polvo y barrer en seco, pues únicamente se desplaza el polvo que, puesto en suspensión en el aire, se vuelve a posar instantes después.

En el proceso de limpieza es preciso ejercer una acción mecánica para permitir el contacto del detergente con la suciedad y los microorganismos, posibilitando el arranque de la suciedad; ésta puede realizarse por agitación, presión o frotamiento manual.

Aunque en condiciones normales el agua es un líquido incoloro, inodoro e insípido, a veces presenta materias en suspensión o abundancia de sales solubles de calcio y magnesio, lo que hace aumentar su dureza. Esto producirá el efecto de disminución del poder de limpieza de los detergentes, al tiempo que se forman incrustaciones no deseables porque disminuyen la conductibilidad calorífica, obstruyen las válvulas y los conductos, favorecen la corrosión de los equipamientos y

son un soporte para los elementos contaminantes, ya que su rugosidad facilita que los microorganismos y la suciedad queden adheridos en ella (CESNID, 1999).

Desinfectar es destruir todas las bacterias patógenas y la mayoría de las no patógenas que están presentes en los objetos y superficies.

Para que una desinfección sea eficaz debe cumplir los siguientes aspectos (CESNID, 1999):

- ☞ Conocer el tipo de microorganismos. La eficacia de un desinfectante dependerá de los tipos y número de microorganismos existentes. Se debe variar periódicamente de desinfectante para que los microorganismos existentes no se hagan resistentes al producto.
- ☞ Utilizar un desinfectante homologado.
- ☞ Dosificar correctamente. Una dosis inferior hará el producto ineficaz. Una dosis superior puede causar irritaciones o intoxicación al personal que lo utilice, dejar residuos en las superficies y dañar los objetos y superficies por corrosión, y puede implicar la pérdida de dinero y contaminación medioambiental.
- ☞ El desinfectante ha de actuar el tiempo suficiente para que sea eficaz.
- ☞ Las temperaturas de +35 a +45°C aceleran la acción del desinfectante.

En la tabla 18 se puede observar las propiedades de diferentes desinfectantes.

Tabla 18. Propiedades de algunos desinfectantes.

<i>PRODUCTOS DESINFECTANTES</i>				
<i>PROPIEDADES</i>	<i>VAPOR</i>	<i>CLORO</i>	<i>IODOFOROS</i>	<i>AMONIO CUATERNARIO</i>
Eficaz contra Gram +: clostridios, <i>Bacillus</i> , <i>Staphylococcus</i>	Óptimo	Bueno	Bueno	Bueno
Eficaz contra Gram -: <i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> , psicotrofos	Óptimo	Bueno	Bueno	Malo

Esporas	Bueno	Bueno	Malo	Regular
Bactericida	Óptimo	Bueno	Bueno	Malo
Corrosivo	No	Sí	Ligeramente	No
Afectado por la dureza de agua	No	No	Ligeramente	Sí
Irritante de la piel	Sí	Sí	Sí, en algunas personas	No
Afectado por presencia de materia orgánica	No	Mucho	Algo	Poco
Estabilidad de la solución de uso		Se disipa rápido	Se disipa lentamente	Estable
Estabilidad de solución caliente		Inestable	Muy inestable	Estable
Residuos	No	Sí, en materia orgánica	Sí	Sí
Coste	Caro	Muy barato	Barato	Caro
Afectado por variaciones de pH	No	Sí	Sí	Sí

Fuente: Palacios, 1998.

Los insectos son un peligro sanitario potencial en los servicios de alimentación. La desinsectación es el proceso por el cual se eliminan dichos insectos.

Se puede luchar contra los insectos del modo siguiente (CESNID, 1999):

- a) Adaptar las instalaciones a tal fin para impedir su entrada con mosquiteras, puertas dobles, flujos de aire, etc.
- b) Instalar trampas con foco emisor de luz (ultravioleta) y un sistema para matar y eliminar los insectos atraídos.
- c) Debido a su toxicidad está prohibida la utilización de insecticidas sobre alimentos o en locales donde éstos se manipulen. Sólo se pueden utilizar al finalizar la jornada de trabajo.

Las ratas y ratones son un peligro de contaminación para los servicios de alimentación, que constituyen un lugar atrayente para ellos.

En el proceso de desratización hay que tener en cuenta diversos aspectos (CESNID, 1999):

1. Aplicar venenos agudos o crónicos en lugares separados de los alimentos.
2. Utilizar trampas con muelle o jaulas.
3. Prever el diseño de las instalaciones con materiales resistentes para impedir el acceso de estos roedores al establecimiento.
4. Eliminar cajas y cartones en la zona de recepción.
5. Mantener una limpieza estricta y no dejar restos de comidas.

II.2.11.2. LEGISLACIÓN DE LOS LOCALES.

RD 2207/1995, de 28 de diciembre, por el que se establece las normas de higiene relativas a los productos alimenticios (BOE nº 50, de 27 de febrero de 1996).

En general, los requisitos de los *locales de empresas alimentarias* son los siguientes:

1. Los locales por donde circulen los productos alimenticios estarán limpios y en buen estado.
2. La disposición de conjunto, el diseño, la construcción y las dimensiones de locales por donde circulen los productos alimenticios:
 - a) Permitirán una limpieza y desinfección adecuadas.
 - b) Evitarán la acumulación de suciedad, el contacto con materiales tóxicos, el depósito de partículas en los alimentos y la formación de condensación o moho indeseable en las superficies.
 - c) Se posibilitará las prácticas correctas de higiene de los alimentos.
 - d) Dispondrán de condiciones térmicas adecuadas para el tratamiento y el almacenamiento higiénico de los productos.
3. Existirá un número suficiente de lavabos e inodoros, estos últimos no comunicados directamente con locales en los que se manipulen alimentos.
4. Los lavabos para la limpieza de las manos estarán provistos de agua corriente fría y caliente, así como de material de limpieza y secado higiénico de las manos.

5. Suficiente ventilación, evitando las corrientes de aire de zonas contaminadas a zonas limpias.
6. Suficiente iluminación.
7. Vestuarios suficientes para el personal de la empresa.

En aquellos *locales donde se preparan, tratan o transforman los alimentos*, los requisitos son los siguientes:

1. Estos locales tendrán:
 - a) Las superficies de los suelos se conservarán en buen estado y serán fáciles de limpiar y, cuando sea necesario, desinfectar.
 - b) Las superficies de las paredes se conservarán en buen estado y serán fáciles de limpiar y, cuando sea necesario, desinfectar.
 - c) Los techos, falsos techos y demás instalaciones suspendidos estarán diseñados, contruidos y acabados de forma que impidan la acumulación de suciedad y reduzcan la condensación, la formación de moho indeseable y el desprendimiento de partículas.
 - d) Las ventanas y demás huecos practicables estarán contruidos de forma que impidan la acumulación de suciedad y protegidos de pantallas contra insectos que puedan desmontarse con facilidad para proceder a la limpieza.
 - e) Las puertas serán fáciles de limpiar y, cuando sea necesario, de desinfectar.
2. Se dispondrá de las debidas instalaciones de limpieza y desinfección de los instrumentos y materiales de trabajo.
3. Se tomarán las medidas adecuadas para el lavado de los alimentos que lo requieran. Todos los fregaderos o instalaciones similares destinadas al lavado de alimentos tendrán un suministro adecuado de agua potable caliente, fría o de ambas, y se mantendrán limpios.

Para los locales o establecimientos de venta ambulante, tales como carpas, tenderetes y vehículos de venta ambulante, establecimientos de temporada, locales utilizados principalmente como vivienda privada, *locales utilizados para servir comidas* y máquinas expendedoras tendrán los siguientes requisitos:

1. Estarán situados, diseñados, contruidos y conservados de forma que se prevengan el riesgo de contaminación de los alimentos y la presencia de insectos u otros animales indeseables.
2. En particular, y cuando sea necesario:
 - a) Se facilitarán instalaciones adecuadas para mantener una correcta higiene personal.
 - b) Las superficies que estén en contacto con los alimentos estarán en buen estado y serán fáciles de lavar y, cuando sea necesario, de desinfectar. Serán de materiales lisos, lavables y no tóxicos.
 - c) Se contará con material adecuado para la limpieza y la desinfección del equipo y los utensilios de trabajo.
 - d) Dispondrá de material adecuado para la limpieza de los alimentos.
 - e) Existirá un suministro adecuado de agua potable caliente, fría o ambas.
 - f) Se contará con medidas o instalaciones adecuadas para el almacenamiento y la eliminación higiénica de sustancias y desechos peligrosos o no comestibles.
 - g) Se contará con instalaciones o dispositivos precisos para el mantenimiento y la vigilancia de las condiciones adecuadas de la temperatura de los productos alimenticios.
 - h) Los productos alimenticios se colocarán de forma que se prevenga el riesgo de contaminación.

II.2.12. EDUCACIÓN EN HIGIENE.

Un alimento que está por definición destinado al consumidor, debe en nuestras sociedades industriales satisfacer un placer y, al mismo tiempo, responder a necesidades. Para satisfacer este tipo de demandas, deben poseer cualidades conocidas y visibles (Vincent, 1997):

- visuales: coloración, aspecto
- organolépticas: agrado de su consumo
- de servicio: comodidad de empleo
- de presentación y envasado

así como cualidades invisibles:

- higiénicas
- nutricionales
- tecnológicas (incluyendo presentación y envasado).

Todo esto contribuye a la calidad del alimento. Esta calidad, la define de forma más general la norma ISO-9000 como el “conjunto de las propiedades y características de un producto que le confieren la capacidad de satisfacer necesidades expresadas o implícitas”.

Las enfermedades transmitidas por alimentos se presentan porque muchas personas que trabajan en todas las actividades de la industria de la alimentación se encuentran desinformadas, son negligentes o resulta económicamente inviable aplicar prácticas sanitarias. Quienes desarrollan cualquier actividad con alimentos para consumo humano o animal deberán conocer los métodos para la prevención de intoxicaciones alimenticias y de otras enfermedades transmitidas por alimentos.

La apropiada educación y entrenamiento a los trabajadores de granjas, mataderos, lecherías, pescaderías y transportistas entre otros y las actuaciones oficiales en controles de los alimentos pueden tapar más de un hueco que dejan los programas de higiene en los países industrializados y evitar el origen de muchos brotes de toxiinfección (Ghirotti, 1990).

En la tabla 19 se agrupan algunos agentes que provocan intoxicación alimentaria según su origen, métodos de control de la sanidad pública y el diagnóstico y tipificación en el laboratorio.

Tabla 19. Fuentes y control de bacterias que provocan intoxicaciones alimenticias.

<i>Fuentes</i>	<i>Control de la Sanidad Pública</i>	<i>Control de laboratorio</i>
<i>Salmonella</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Animal Heces, piel, pezuñas, garras. • Alimentos Carne y aves, piensos para animales, productos derivados de los huevos, leche cruda. • Ambiente donde se preparan los alimentos. • Agua para beber y preparar alimentos. • Humana heces, manos. 	<p>Métodos de cría. Piensos. Higiene de las explotaciones. Higiene de los mataderos. Higiene de la producción. Tratamiento para sanear. Almacenamiento. Limpieza de equipo, utensilios y superficies. Tratamiento mediante filtración y cloración. Cuidado al manipular alimentos. Evitar la contaminación cruzada de alimentos crudos a cocinados. Higiene personal.</p>	<p>Medios de diagnóstico para muestras de heces, frotis y alimentos. Recuentos bacteriológicos en alimentos y piensos. Pruebas bioquímicas. Tipificación serológica y de bacteriófagos.</p>
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Humana Nariz, garganta, manos, piel y lesiones. • Animal Vaca, cabra. • Alimentos (lácteos) Leche, queso, crema. 	<p>Cuidado al manipular alimentos. Almacenamiento de alimentos cocinados. Higiene y hábitos personales. Atención a la mastitis. Higiene de la producción lechera. Tratamiento térmico de la leche para beber y para elaborar crema y queso.</p>	<p>Medios de diagnóstico para muestras de frotis y alimentos. Recuentos bacteriológicos en alimentos. Prueba de la coagulasa. Tipificación de bacteriófago y serológica. Detección de enterotoxina mediante técnicas inmunológicas.</p>
<i>Clostridium botulinum</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Suelo y cieno • Peces • Alimentos. Peces, carne y verdura. • Animal Heces y polvo. 	<p>Preparación y cocinado.</p>	<p>Identificación de la toxina (pruebas de neutralización en ratones). Medios de diagnóstico.</p>

Estreptococos

• Humana	Cuidado general de los alimentos.	Medios de diagnóstico.
• Animal.	Almacenamiento.	Recuentos bacteriológicos en alimentos.
• Alimentos.		Tipificación serológica.

Fuente: Hobbs, 1993.

La creciente población mundial y la consiguiente necesidad de más alimentos entrañan dificultades para asegurar la higiene de los alimentos. Los nuevos conservantes y aditivos y el comportamiento de ciertos agentes patógenos influyen sobre el contenido microbiano de los alimentos.

Microorganismos patógenos como *Salmonella* y *Escherichia coli* llegan a mataderos y plantas dedicadas a procesar alimentos en o sobre aves y animales vivos y son transferidos a las canales. *Clostridium perfringens* está presente casi siempre sobre y en la carne de mamíferos y aves. Todos estos alimentos contaminados llegarán a las cocinas de establecimientos que sirven comidas, así como a las cocinas de instituciones y de los hogares. La posibilidad de contaminación cruzada de los alimentos crudos a los cocinados es probable a través de muchos medios: manos, superficies, instrumentos de cocina y otro equipo (Hobbs, 1993).

Los mayores riesgos tienen su origen en una falta de atención a los tiempos y temperaturas que se precisan para cocinado y almacenamiento. Si este último es a temperatura ambiente durante largos períodos de tiempo se estimulará la multiplicación masiva de bacterias en los alimentos, provocando su alteración o intoxicación alimenticia.

Los dirigentes de establecimientos que sirven alimentos deben ser entrenados en los principios de la higiene de los alimentos de forma que a su vez entrenen y supervisen a los trabajadores responsables de procesar, preparar, almacenar y servir alimentos.

El personal que sirve las comidas en los hospitales tiene una posición particularmente responsable porque alimentan a personas enfermas cuya inmunidad

puede ser baja. Mientras que las personas sanas suelen ser capaces de superar la presencia de un número reducido de agentes patógenos intestinales en los alimentos, quienes están enfermos, particularmente ancianos y niños jóvenes, sucumbirán fácilmente a la infección e intoxicación; entre estos grupos son más comunes las defunciones por infecciones transmitidas por alimentos (Hobbs, 1993).

Los directivos de factorías y de manipuladores de alimentos son responsables de la sanidad y de la calidad de los artículos que utiliza diariamente el público. Los ganaderos y todos aquellos que intervienen en la producción animal son responsables de la sanidad de sus rebaños y cabañas.

Las escuelas tienen la responsabilidad de enseñar a los niños, incluso a los jóvenes, sobre la infección y la forma en que se difunden las bacterias. Los hábitos higiénicos no son instintivos, por lo que el entrenamiento en higiene de los alimentos debe incluirse en el curriculum de la ciencia doméstica y manejo del hogar. El servicio escolar de comidas proporciona regularmente las comidas de mediodía y muchas escuelas disponen de un servicio de cafetería con una amplia oferta de alimentos calientes y fríos. Aunque la mayoría de las escuelas disponen de sus propias cocinas, para aquellas que no la tienen, las cocinas centrales pueden preparar más de 1000 comidas diariamente para varias escuelas y repartir asimismo comidas con vehículos a personas enfermas y ancianas.

II.2.12.1. MÉTODOS DE ENSEÑANZA

Existen muchas formas diferentes de describir los hechos esenciales de la higiene de los alimentos como por ejemplo los siguientes:

- ◆ Conferencias
- ◆ Reuniones
- ◆ Talleres: el trabajo práctico complementa las sesiones teóricas y un taller tiene un valor especial para cocineros y otras personas que trabajan en las cocinas.
- ◆ Estudios en casa: textos de estudio individual para personas que no pueden asistir a los centros de enseñanza.

- ◆ Ayudas audiovisuales: incluyen demostraciones con gráficos y dibujos, diapositivas de cultivos bacterianos y notas sobre los métodos de análisis de los alimentos y de brotes de intoxicación alimentaria. Pueden prepararse cultivos en placas de petri para ilustrar la contaminación de nariz, manos, pelo, utensilios y alimentos. Mostrarán el efecto de tocar un alimento y la eficacia del lavado de las manos, así como el crecimiento según se encuentren limpios o sucios pañuelos, paños de cocina, toallas y superficies.
- ◆ Demostraciones: pueden realizarse en las cocinas. Al usar un colorante fluorescente en vaselina se demuestra la difusión de la infección mediante las manos tras su lavado. La expansión de los líquidos vertidos hacia amplias zonas puede demostrarse a través de microorganismos que producen colonias de colores brillantes. De forma similar, puede demostrarse la expansión desde la taza de los retretes al tirar de la cadena y la difusión de las gotitas.

II.2.12.2. VIAJES Y ACAMPADAS.

Resulta relativamente sencillo aplicar unas buenas prácticas de higiene de los alimentos cuando se preparan y consumen en el hogar o en instalaciones de catering, es decir, donde se dispone de un suministro fácil de agua potable y limpia (tanto caliente como fría), y electricidad o gas para cocinar y equipo de refrigeración. No resulta tan sencillo mantener unas buenas prácticas higiénicas en viajes y acampadas.

Los principios fundamentales para la provisión de alimentos sanos son los mismos cualquiera que sea el medio de transporte elegido y cualquiera que sea el país de destino. Los países con climas cálidos tendrán mayores problemas que los de zonas templadas.

Ciertos hábitos alimenticios pueden exponer tanto a los habitantes de un país como a los viajeros a riesgos especiales. Por ejemplo, el consumo de pescado crudo fermentado en el Artico y en Japón ha determinado un incremento de casos de botulismo.

El procesado cuidadoso de alimentos enlatados, una aversión moderada hacia el pescado crudo y una educación cuidadosa sobre métodos higiénicos de conservación casera que incluye el tratamiento térmico de frutas ácidas, aunque raras veces de carnes, aves, caza o verduras, ha protegido a la población en muchas ocasiones.

Dentro de las normas para viajeros tenemos las siguientes:

1. Evitar beber y limpiarse los dientes con agua fría a menos que haya sido hervida o clorada personalmente mediante la adición de tabletas o líquidos de marcas reconocidas que contengan hipoclorito sódico.
2. Evitar la incorporación de hielo a las bebidas ya que el hielo puede ser preparado con agua contaminada.
3. Entre los alimentos a evitar a menos que se encuentre asegurada su sanidad se incluyen:
 - helados
 - leche
 - quesos blandos o semiduros
 - carnes frías cocinadas o semiconservadas, salchichas y sandwiches de carne, que pueden haber sido sometidos a mucha manipulación y mala conservación en países cálidos
 - albóndigas, que pueden haber sido preparadas con sobras de carne cocinada que es un medio adecuado para el crecimiento de *C. perfringens*.
 - alimentos con salsa curry
 - marisco y otros alimentos marinos
 - tapas de bar
 - pollos cocinados y otras carnes como brochetas, hamburguesas, perritos calientes
 - ensaladas y frutas
 - platos preparados con huevos crudos.

II.3. NUTRICIÓN ESCOLAR

II.3.1. LOS NUTRIENTES

Tradicionalmente, y de manera muy esquemática, los nutrientes sólidos se clasifican en función de su papel principal en el organismo: papel energético, papel estructural, papel catalítico o regulador, no olvidando que algunos nutrientes poseen varias de estas funciones.

Gracias a la digestión y absorción intestinal el organismo recibe los nutrientes celulares que utiliza para producir la energía, o las moléculas complejas que lo caracterizan.

La clasificación de los nutrientes sólidos es la siguiente (Malewiak, 1997):

1. Macronutrientes energéticos y estructurales.

Son los constituyentes simples de los lípidos, glúcidos y proteínas, procedentes mayoritariamente de la digestión.

2. Minerales: nutrientes estructurales y catalíticos.

Los minerales no son degradables en el organismo. El metabolismo mineral se limita a los movimientos de estos compuestos entre la sangre y los tejidos y a su eliminación. Los minerales no son fuente de energía, pero a menudo están incorporados en las estructuras celulares, principalmente en las membranas celulares y la estructura del hueso. Por otra parte, numerosos minerales son indispensables para la actividad de las hormonas y, principalmente, de las enzimas.

3. Vitaminas: nutrientes muy particulares.

Se trata de moléculas muy variadas de las que nuestro organismo tiene una necesidad pequeña pero constante para realizar todas las reacciones químicas celulares que están en la base de su funcionamiento. Pero el hombre no es capaz de sintetizarlas. Son los nutrientes catalizadores o reguladores de las reacciones celulares.

Luego tenemos las fibras alimentarias que no son nutrientes propiamente dichos, pero intervienen de forma importante en la regulación de las funciones digestivas.

II.3.1.1. GLÚCIDOS

También llamados hidratos de carbono. Los glúcidos toman su nombre de “glucis” que significa dulce. La mayoría de la energía que necesitamos para movernos, para realizar un trabajo o vivir proviene del consumo de los carbohidratos. Se encuentran fundamentalmente en los vegetales y son la principal fuente de alimento en todo el mundo, además de la más barata, la más fácil de obtener y la más fácil de digerir.

Los glúcidos más simples son los azúcares u osas. Existen tres tipos principales de hidratos de carbono: monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Los monosacáridos son los hidratos de carbono más sencillos. Entre estos están la glucosa, fructosa y galactosa.

Los oligosacáridos están constituidos por cadenas cortas de monosacáridos. Dentro de los oligosacáridos, los más importantes son los disacáridos como la sacarosa (glucosa+fructosa), lactosa (glucosa+galactosa) y maltosa (glucosa+glucosa).

Los polisacáridos, también llamados hidratos de carbono complejos, están compuestos por numerosas moléculas de monosacáridos que desde el punto de vista nutricional se les puede dividir en dos grandes grupos:

1. Polisacáridos utilizables como fuente de energía: almidón y glucógeno.
2. Polisacáridos no utilizables energéticamente: celulosa, hemicelulosa, pectina, agar, gomas y mucílagos, que se integran dentro de lo que se denomina fibra alimentaria.

El almidón es el hidrato de carbono más abundante en la alimentación, encontrándose en los granos de los cereales y en los productos elaborados con ellos,

como el pan, las pastas y la bollería. También forma parte importante de las leguminosas.

Los hidratos de carbono simples tienen un efecto energético rápido que es útil en los esfuerzos físicos como la sacarosa. Mientras que los hidratos de carbono complejos requieren un proceso digestivo importante; son absorbidos lentamente, dando un efecto energético regular.

La fibra alimentaria es una mezcla de sustancias no digestibles y, por tanto, no absorbibles por el organismo. Está contenida en gran cantidad en los alimentos de origen vegetal (verduras, frutas, cereales etc). Es necesaria para regular la movilidad intestinal y otras funciones digestivas de especial importancia.

La función más destacada de los hidratos de carbono es el suministro de energía proporcionando 4 kcal/g. Asimismo, pueden almacenarse y ser utilizados cuando el organismo necesita energía, bien como glucógeno hepático y muscular o mediante su transformación en grasa.

II.3.1.2. LÍPIDOS

Este grupo constituye por excelencia el nutriente energético.

Existen fundamentalmente tres tipos de lípidos en los alimentos: grasas o triglicéridos, fosfolípidos y colesterol.

Desde el punto de vista químico, existen diferentes componentes entre ellos, pero los tres tipos muestran un componente en común que son los ácidos grasos.

Los ácidos grasos pueden ser de varios tipos dependiendo de su estructura química:

1. Ácidos grasos saturados: son los que tienen todos sus átomos de carbono ocupados.

2. Ácidos grasos monoinsaturados: son aquellos en los que dos de sus átomos de carbono tienen cada uno un enlace desocupado, se forma así lo que se denomina un doble enlace.
3. Ácidos grasos poliinsaturados: son aquellos en los que más de dos átomos de carbono tienen lugares desocupados, formando dos, tres o más dobles enlaces.

En general, se puede decir que los ácidos grasos alimentarios, además de ser unos magníficos combustibles biológicos condicionarán una determinada composición de la membrana, lo cual, a su vez, repercutirá a dos niveles. Por una parte, se afectarán las propiedades fisicoquímicas de la membrana, como fluidez, permeabilidad y oxidación especialmente, lo que conduce a modificaciones funcionales más o menos deseables. Por otra parte, los ácidos grasos de la membrana, que se encuentran formando parte de los fosfolípidos de la misma, son los precursores de sustancias de una gran importancia y de muy diversas funciones fisiológicas, como son prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos (Mataix, 1995).

Un gramo de grasa aporta 9 kilocalorías.

Además, los lípidos son el vehículo de vitaminas liposolubles como la vitamina A, relacionada con la protección del tejido epitelial y formación del pigmento en retina; vitamina D, decisiva en el metabolismo del calcio; vitamina E antioxidante y la vitamina K, cuyo déficit se traduce en tendencia a la hemorragia.

La grasa saturada está presente en los productos de origen animal y en dos aceites de procedencia vegetal, el de coco y el de palma, los cuales se emplean con gran frecuencia en productos de bollería y pastelería. Los ácidos que constituyen en mayor proporción la grasa saturada son el láurico, palmítico y esteárico, a los cuales se les atribuyen determinados efectos fisiopatológicos, entre los que destacan los que determinan la cardiopatía isquémica o enfermedad coronaria y, en general, la aterosclerosis, como también determinados tipos de cáncer.

La grasa de pescado es rica en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y pertenecientes a la familia ω -3. Los ácidos grasos que se encuentran en mayor proporción son el EPA (ácido eicosapentaenoico) con 5 dobles enlaces y el DHA (ácido docosahexaenoico) con 6 dobles enlaces. Estos ácidos dentro del organismo dan lugar a una serie de compuestos con actividad biológica que inducen que la sangre sea menos viscosa y que disminuya la capacidad de formación de trombos o coágulos dentro de los vasos, por lo que es menor la posibilidad de obstrucción de vasos sanguíneos importantes, como los coronarios y los cerebrales. Además, estos compuestos favorecen la dilatación de los vasos sanguíneos, facilitando así la irrigación de los diferentes órganos (Mataix, 1995).

El DHA es el ácido graso constituyente mayoritario en el sistema nervioso y en la retina.

En general, se estima que las ingestas deseables de ácido linoleico deben proveer entre un 4 y un 10% de la energía, y que la ingesta debe situarse en el nivel más elevado cuando la ingesta de grasa saturada y colesterol es relativamente alta. El suministro del 1-2% de la energía como ácido linoleico en la dieta es suficiente para prevenir los síntomas clínicos de deficiencia de este ácido esencial en los niños, pero se recomienda que los lactantes ingieran al menos el 3% de la energía como ácido linoleico. De igual forma, se estima que en la infancia la ingesta deseable de ácido linoléico debe oscilar entre un 1 y 1.5% de la energía (Clandinin et al. 1989).

Muchos aceites de semillas son ricos en ácidos grasos poliinsaturados, pero a diferencia de la grasa de pescado, éstos pertenecen a la familia ω -6, cuyo principal representante es el ácido linoleico, con una serie de condicionantes negativos para la salud como el efecto inmunosupresor, la repercusión en la agravación de ciertos tipos de cáncer, su facilidad oxidativa y un cierto efecto trombogénico.

Por el contrario, el ácido oleico (ácido graso monoinsaturado) componente primordial del aceite de oliva, ejerce unos beneficiosos efectos cardiovasculares a dos niveles: disminuye los niveles de colesterol plasmático, tanto el total como el unido a las lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol) y mantiene o eleva los

niveles de HDL-colesterol (lipoproteínas de alta densidad que son consideradas como antiaterogénicas).

También a nivel vascular el ácido oleico disminuye tanto la presión arterial sistólica (máxima) como la diastólica. Tiene una influencia muy positiva en prácticamente todas las funciones digestivas: gástrica, pancreática, biliar e intestinal.

En un estudio realizado a niños de 8 a 10 años de edad de diferentes razas (negros, hispanicos y blancos) en colegios de California, Louisiana, Minnesota y Texas se puso de manifiesto que el volumen de colesterol total en el cuerpo, LDL y HDL - colesterol difieren en niños según el género, el grupo étnico y la situación geográfica (Belchner, 1993).

Kuehl y colaboradores (1993) en un trabajo de hipercolesterolemia en 295 niños encuentran que el colesterol total disminuye si está acompañado por cambios de la dieta como disminución de calorías derivadas de grasas saturadas, aumento de fibra, aumento de proteína y aumento de carbohidratos.

La FAO y la OMS han recomendado que, para la mayor parte de los adultos, la grasa de la dieta debe suministrar al menos el 15% del total de la ingesta energética. Asimismo, las mujeres en edad reproductiva deben consumir al menos el 20% de la energía en forma de grasa dietética, y los lactantes y los niños de corta edad entre el 40 y 50%. En individuos sanos, el consumo de grasas nunca debe suponer más del 35% de la energía total, y el consumo de grasa saturada no debe exceder del 10% de la energía total (FAO/WHO, 1994).

II.3.1.3. PROTEÍNAS

Las proteínas corporales además de la función estructural que poseen tienen otras funciones como reguladora, defensiva y de transporte.

Las proteínas alimentarias suministran los aminoácidos que permiten sintetizar las diversas proteínas propias de cada especie. La conversión de la proteína alimentaria en los aminoácidos que la forman se lleva a cabo mediante el proceso digestivo y constituye un fenómeno obligado. Si bien, estos aminoácidos no son igualmente importantes para el ser vivo, puesto que unos pueden ser sintetizados endógenamente, los llamados *no esenciales*, mientras que otros necesitan ser aportados necesariamente por la dieta, los *esenciales*.

Entre los aminoácidos no esenciales se encuentran: ácido glutámico, ácido aspártico, alanina, arginina, cisteína, glicina, histidina, prolina, serina y tirosina.

Entre los aminoácidos esenciales se incluyen: leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina e histidina.

Así una proteína de buena calidad es la que suministra los aminoácidos esenciales y además lo hace en las cantidades que el organismo requiere, como por ejemplo el huevo que contiene una proteína que se considera “patrón” y en menor grado los productos de origen animal, como leche, carne y pescado, y entre los vegetales, las leguminosas.

Las demandas de proteínas son máximas en la niñez y la adolescencia debido al importante crecimiento y desarrollo que tienen lugar en estas etapas. Asimismo, las mujeres gestantes y en período de lactación presentan requerimientos aumentados de proteínas para atender al desarrollo del embrión y del feto y a la formación de proteínas lácteas respectivamente. Las demandas proteicas del adulto son menores, ya que la formación de estructuras prácticamente no existe, y las proteínas se dedican a la reparación o reposición de las ya existentes (Mataix, 1995).

Un gramo de proteína aporta 4 Kilocalorías.

II.3.1.4. VITAMINAS

Se pueden clasificar en dos grupos en función de su solubilidad:

- Vitaminas solubles en agua o hidrosolubles: son el grupo de las vitaminas B y PP y la vitamina C, esencialmente son coenzimas.
- Vitaminas solubles en los lípidos o liposolubles: son las vitaminas A, D, E y K. Sus mecanismos de acción son más complejos y menos conocidos que los de las vitaminas hidrosolubles.

Las vitaminas liposolubles son estables al calor y no pasan a las aguas de cocción de los alimentos, mientras que las vitaminas hidrosolubles sufren una pérdida por oxidación proporcional al tiempo de calentamiento, al estado de fraccionamiento del alimento, a las condiciones de pH, etc. Cuantitativamente la pérdida por difusión en el agua es más importante que la pérdida por oxidación, pero si el agua es consumida la pérdida es menos importante (Malewiak, 1997).

II.3.1.4.1. Vitamina C

Actúa como poderoso agente reductor interviniendo como fuente de electrones para que se produzca la reducción del oxígeno, y como agente protector antioxidante para mantener el estado reducido de los iones de hierro y cobre. Además, evita la formación de nitrosaminas carcinogénicas, mediante la reducción de nitritos, lo que le podría conferir cierto papel “protector “ frente al desarrollo de ciertos tumores.

El déficit de vitamina C origina la enfermedad del escorbuto con una sintomatología de erupciones cutáneas, tumefacción de extremidades inferiores, hemorragias, deterioro de las encías con sangrado, caída de piezas dentales, disminución de la cicatrización de las heridas, depresión, etc.

La vitamina C ó ácido ascórbico tiene una constitución química tal que la hace muy reductora y, por tanto, muy oxidable. Su estabilidad se preserva mejor en medio ácido. De ahí el interés de la condimentación ácida de las hortalizas crudas.

Entre las fuentes de vitamina C están los vegetales frescos, hortalizas y frutas, sobre todo:

- las finas hierbas: perejil, las hojas de las coles.

- las hortalizas de hojas verdes: espinacas, escarolas, lechugas, etc.
 - las frutas rojas ácidas (grosella negra) y los cítricos.
 - los tubérculos
- y también hay fuentes de origen animal, el hígado.

Entre los alimentos vegetales el contenido es muy variable. Varios factores concurren en dar alimentos más ricos en vitamina C:

- a) La acidez: por lo general, cuanto más ácida es una fruta más elevado es su contenido en vitamina C y mejor se conserva la vitamina.
- b) El color: la parte verde es mucho más rica en vitamina C que la blanca.
- c) La duración entre la recolección y el consumo: cuanto más corta sea, más elevado será el contenido en vitamina C.
- d) El método de preparación de los alimentos.

II.3.1.4.2. Vitaminas del grupo B

1) Vitamina B₁ (tiamina)

Es precursora de una coenzima necesaria en numerosas reacciones relacionadas con los hidratos de carbono y los aminoácidos y en la transmisión del impulso nervioso.

La deficiencia grave de esta vitamina conduce a la aparición de la enfermedad conocida por beri beri, que se caracteriza por una afectación de los nervios periféricos y debilidad muscular.

Se encuentra principalmente en los alimentos ricos en glúcidos. Está presente, en particular, en los granos de cereales, en los que se encuentra localizada en la parte periférica y en el germen.

El contenido de vitamina B₁ de la harina y de sus productos derivados depende, pues de la tasa de extracción de la harina, una harina demasiado refinada, demasiado blanca, es pobre en esta vitamina.

La vitamina B₁ es aportada correctamente por el pan cuando el cernido no es muy importante. Es menos abundante en las pastas alimentarias y las tostadas elaboradas con harina muy cernida. El arroz blanco no vaporizado, privado de su cascarilla por pulido, está casi totalmente desprovisto de ella, por eso el beriberi, forma grave de la avitaminosis B₁, es frecuente en Extremo Oriente cuando el

consumo de arroz no vaporizado es importante y no está equilibrado por otros alimentos.

En alimentos animales como el cerdo, hígado, carnes, aves, pescados, huevos, quesos, leche y levadura de cerveza entre otros.

2) Vitamina B₂ (riboflavina)

Forma parte de coenzimas fundamentales que participan en reacciones de óxido-reducción y reacciones de biosíntesis y oxidación de los ácidos grasos, aminoácidos e hidratos de carbono.

La deficiencia es rara pero cuando existe aparecen una serie de síntomas característicos tales como vascularización de la córnea y afectación de la lengua y mucosas labial, nasal y genital.

Los alimentos ricos en esta vitamina son aproximadamente los mismos que la vitamina B₁. La leche contiene bastante.

3) Vitamina PP (niacina)

La avitaminosis (pelagra) existió en muchos países que tenían una alimentación a base de cereales, en particular maíz y pobre en proteínas animales. La sintomatología de la pelagra (enfermedad de las tres “d”) incluye dermatitis, demencia y diarrea.

Está presente en cereales integrales, legumbres, hortalizas frescas, papas, carnes, pescados y levadura.

4) Vitamina B₆ (piridoxina)

Actúa como cofactor en un gran número de reacciones enzimáticas (de transaminación) relacionadas fundamentalmente con el metabolismo de los aminoácidos. Sus necesidades aumentan al incrementarse la ingesta proteica.

En el hombre no se conoce una situación de avitaminosis espontánea mayor, pero existen deficiencias que son provocadas, la mayoría de las veces, por la toma de ciertos medicamentos.

Está presente en el germen de trigo, cereales integrales, papas, hortalizas frescas, yema de huevo, pescados y levadura.

5) Vitamina B₁₂ (cobalamina)

No se encuentra en el reino vegetal, por lo que en personas sometidas a regímenes vegetarianos estrictos pueden presentarse situaciones deficitarias de esta vitamina (únicamente la encontrarán en la levadura). La fuente más importante es el hígado, aunque también se localiza en carnes, huevo, lácteos y pescado azul.

6) Acido fólico

Interviene en importantes reacciones metabólicas como reacciones que determinan o limitan la velocidad de síntesis de ADN, reacciones de biosíntesis de purinas y reacciones de biosíntesis de proteínas. El ácido fólico también participa en el proceso de eritropoyesis.

La carencia de ácido fólico en el hombre origina anemia megaloblástica, similar a la causada por déficit de vitamina B₁₂, trastornos neurológicos que incluyen neuropatía periférica, trastornos cerebelosos y psíquicos, trastornos digestivos con diarrea, estomatitis y glotitis.

Está presente en gran número de alimentos vegetales y animales, pero en muy pequeñas concentraciones. Los alimentos más ricos en ácido fólico son las hortalizas de hojas verdes, sobre todo oscuras (lechuga, escarola, espinacas, coles verdes), así como el hígado, los músculos de los mamíferos, los quesos de pasta blanda y de corteza florida (tipo camembert) y los quesos con moho interno (quesos azules, roquefort).

El alcoholismo favorece las deficiencias de todas las vitaminas del grupo B.

II.3.1.4.3. Vitamina A

El principal efecto biológico de la vitamina A o retinol es mantener la integridad de las membranas biológicas, en particular las de los tejidos epiteliales. Es indispensable para los mecanismos de la visión.

Se encuentra en los tejidos animales y en algunas grasas. La leche contiene vitamina A y la mantequilla es una fuente abundante. La yema de huevo la contiene, igualmente, en una cantidad apreciable. El hígado almacena la vitamina A y es una fuente muy abundante.

Los carotenos, pigmentos vegetales coloreados, pueden ser transformados por los animales y el hombre en vitamina A, son los llamados *provitaminas A*. Esta transformación se efectúa esencialmente en el curso de la absorción intestinal. Los vegetales más ricos en carotenos son, pues, aquellos que están más coloreados (naranjas, rojos, amarillos y verdes). Las necesidades de vitamina A se expresan en la actualidad en equivalentes de retinol (ER), siendo 1ER igual a 1 µg de retinol).

II.3.1.4.4. Vitamina D

La vitamina D o tocoferol desempeña un papel importante en el metabolismo del calcio. Al controlar la cantidad de calcio que debe depositarse en el tejido óseo, previene el raquitismo en los niños pequeños.

La vitamina D presenta una particularidad: el organismo humano es capaz de sintetizarla y esta síntesis constituye su principal fuente. La biosíntesis de la vitamina D se efectúa a partir del colesterol cutáneo bajo la acción de los rayos ultravioletas emitidos por la luz solar. Las deficiencias o carencias son frecuentes en toda persona expuesta de forma insuficiente al sol.

Los alimentos que contienen esta vitamina son los pescados grasos, la yema de huevo, la leche entera, los quesos, la mantequilla y algunas margarinas.

II.3.1.4.5. Vitamina E

El principal papel de la vitamina E o tocoferol es su función antioxidante. Estas moléculas tienen la facultad de descomponer los radicales libres oxidantes (especies químicas muy reactivas) formados en el organismo durante un determinado número de reacciones fisiológicas, pero también abundantes en los fenómenos inflamatorios, en la irradiación por rayos ultravioletas etc.

El efecto protector de los tocoferoles es particularmente importante con los ácidos grasos poliinsaturados, tanto los que forman las membranas celulares como los que son transportados en la sangre.

Entre las principales fuentes de tocoferoles está el aceite de girasol, los aceites de maíz y pepitas de uva y el germen de trigo.

II.3.1.4.6. Vitamina K

El símbolo K designa la palabra danesa “koagulation” y es esta vitamina factor circulante liposoluble necesario para la coagulación de la sangre.

Su aporte alimentario está asegurado, especialmente, por las hortalizas de hoja (coles, espinacas, etc.) y por los tomates.

II.3.1.5. MINERALES

Los minerales se clasifican atendiendo a las cantidades que son necesarias para el organismo. Así, se diferencian los elementos principales y elementos trazas, aunque todos ellos se pueden considerar esenciales, debiendo, por tanto, ser obligatoriamente aportados por la dieta.

Los *elementos principales* o minerales principales son los que están presentes en mayor proporción en los tejidos, por lo que tienen que ser aportados en cantidades superiores (más de 100 mg) por la dieta. Se conocen como macronutrientes. Se incluyen en este grupo: calcio (Ca), cloro (Cl), magnesio (Mg), fósforo (P), potasio (K), sodio (Na) y azufre (S).

Los *elementos traza* o minerales traza son igualmente necesarios para el organismo, pero en cantidades muy inferiores. Los requerimientos de ingesta diaria para el hombre son menores de 100 mg. Se conocen también como microminerales. Se incluyen en este grupo: cromo (Cr), cobalto (Co), cobre (Cu), flúor (F), yodo (I), hierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), selenio (Se) y cinc (Zn).

La distribución de los minerales en los alimentos es irregular, especificando algunos de ellos tenemos los siguientes:

1) Calcio

Los alimentos ricos en calcio son la leche (120mg/100ml), los yogures, los quesos (850mg/100g en los quesos de pasta dura), las hortalizas (las hojas alrededor de 100mg/100g y las raíces en 50mg/100g), las frutas frescas (en particular los cítricos) y las secas (Malewiak, 1997).

El calcio es necesario para formar y mantener el tejido óseo. La vitamina D favorece la absorción del calcio.

2) Sodio

En un régimen normal, la fuente principal de sodio es el cloruro de sodio añadido durante las preparaciones o cocciones. Son igualmente ricos en sodio todos los alimentos que han sido sometidos a salazón (chacinas, queso, pan, conservas, condimentos, etc.).

Tiene un papel importante en el equilibrio ácido-base y en el equilibrio osmótico del organismo.

3) Potasio

Es un catión intracelular con 4 importantes funciones: distribución y balance hídrico, equilibrio osmótico, balance ácido-base e irritabilidad muscular.

Tienen un alto contenido en potasio las frutas y verduras fundamentalmente. El cocinado de estos alimentos disminuye su concentración.

4) Hierro

En el caso del hierro, bastante escaso en los alimentos, es preciso considerar su tasa de absorción. Los alimentos ricos en hierro son el hígado, chocolate, perejil, legumbres, carne de vaca, frutas desecadas, nueces, almendras, espinacas, cereales, huevos y berros entre otros.

El hierro está presente en la hemoglobina de la sangre, y participa en el transporte del oxígeno de los pulmones hacia los diferentes órganos. Se encuentra también en los músculos y otra parte se almacena como hierro de reserva, sobre todo en el hígado y la médula ósea.

5) Yodo

Se encuentra yodo en los pescados de mar y, en menor grado, en los vegetales verdes y las frutas, pero en estos últimos los contenidos varían mucho según la riqueza en yodo del suelo sobre el que han crecido. En la actualidad la principal fuente de yodo es la sal enriquecida en yodo.

Es indispensable para la síntesis de las hormonas tiroideas, que son necesarias para el mantenimiento del metabolismo en muchas células.

6) Zinc

Es componente de metaloenzimas e interviene en muchas funciones del organismo: crecimiento y replicación celular, maduración sexual, fertilidad y reproducción, en la visión nocturna, respuesta inmune y sentido del gusto y apetito.

Los productos animales son en general una fuente importante de zinc: ostras, carne, hígado, huevos y leche. Las legumbres y cereales integrales sólo aportan el 2%.

II.3.2. DIETA EQUILIBRADA

Una correcta alimentación es la base de una buena salud y esto justifica que en las sociedades más desarrolladas exista una preocupación creciente sobre la nutrición en la etapa escolar. La escuela debe jugar un papel fundamental en esta etapa, asegurando una adecuada formación sobre higiene y alimentación al futuro adulto (Martín, 1996).

Una alimentación correcta no significa sólo ingerir una determinada cantidad de nutrientes sino el conjunto de un equilibrio entre los distintos principios inmediatos que permitan una oportuna regeneración del organismo y le aporten la energía necesaria para vivir. Una alimentación correcta viene definida por la moderación, la variedad y el equilibrio (Jacas, 1996).

Evidentemente las características de una dieta pueden ser muy variables según los individuos, los países, los días de la semana, estación del año, edad, etc. A pesar de esta diversidad, en todas las dietas se puede valorar si son o no equilibradas.

Se entiende que una dieta o una alimentación de un individuo concreto es equilibrada cuando permite a ese individuo, teniendo en cuenta su edad y posibles situaciones fisiológicas especiales (crecimiento), el mantenimiento de un adecuado estado de salud a la vez que le capacita para la realización del ejercicio que exige cada tipo de trabajo.

De forma más concreta podemos decir que una alimentación equilibrada debe alcanzar los requerimientos de cada uno de los nutrientes esenciales y energía, sin conducir a excesos. El equilibrio alimentario se alcanzará de la combinación de los distintos tipos de alimentos (Gargallo, 1998).

El valor nutricional de los alimentos se basa, en realidad, en un número relativamente reducido de sustancias. Estas sustancias nutritivas son los nutrientes, absorbibles por el intestino y necesarios para las estructuras y actividades celulares. Se distinguen:

- Los macronutrientes: proteínas, lípidos, glúcidos, algunos minerales cuyo aporte es indispensable en cantidades importantes (del orden de decenas de gramos o gramos por día) y
- Los micronutrientes: la mayor parte de los minerales y las vitaminas (cuyos aportes se sitúan en la gama de los microgramos o miligramos por día).

Se estableció la necesidad de conocer los requerimientos mínimos nutricionales que permitieran garantizar una correcta alimentación. Surgió así en EEUU las RDA (Recommended dietary allowances), es decir, los aportes dietéticos recomendados.

En España, las ingestas recomendadas fueron elaboradas en 1983 por el Instituto de Nutrición del CSIC (Varela, 1985), y los mismos autores han realizado una revisión de las mismas en 1994 adaptándolas a los cambios demográficos y nutricionales que han experimentado nuestro país en los últimos años (tabla 20).

Tabla 20. Ingestas recomendadas de energía y nutrientes para la población española

<i>Edad años</i>	<i>Energía Kcal</i>	<i>Proteínas g</i>	<i>Ca mg</i>	<i>Fe mg</i>	<i>I mg</i>	<i>Zn mg</i>	<i>Vit. A mg</i>	<i>Vit. D mg</i>	<i>Vit. E mg</i>
1-3	1250	23	800	7	55	10	300	10	6
4-5	1700	30	800	9	70	10	300	10	7
6-9	2000	36	800	9	90	10	400	5	8
10-12 niños	2450	43	1000	12	125	15	1000	5	10
10-12 niñas	2300	41	1000	18	115	15	800	5	10
13-15 niños	2750	54	1000	15	135	15	1000	5	11
13-15 niñas	2500	45	1000	18	115	15	800	5	11

Fuente: Varela. 1994.

Johnson y cols. (1994) encuentran una relación entre los factores sociodemográficos (la región geográfica, el grado de urbanización, la raza, el nivel de ingresos de la familia, la edad, educación y la condición del empleo del cabeza de familia) y las ingestas de nutrientes de los niños.

Se recomienda que los glúcidos aporten un 55-65% del total y los lípidos un 25-30%. El 10-15% restante se administrará en forma de proteínas (Aranceta, 1995; Gargallo, 1998; Gómez, 1998).

El consumo excesivo de lípidos en la dieta favorece el aumento de las cifras de colesterol en plasma y el desarrollo de la enfermedad arterioesclerótica. Se debe limitar el aporte de grasa saturada a un 10% de la energía, dada su potencialidad aterogénica, y el colesterol a 300 mg/día. Sin embargo, una reducción indebida de grasas puede privarnos de una serie de ácidos grasos esenciales, contenidos en los lípidos, y que son imprescindibles para el adecuado mantenimiento de la actividad celular. Así se recomienda un mínimo del 3% en el aporte de ácidos grasos poliinsaturados, dentro de los cuales se incluyen los esenciales, con un máximo del 7%.

El perfil de ácidos grasos sería de un 10-12% de la energía aportada por los ácidos grasos monoinsaturados, hasta el 10% de saturados y un 8-10% de poliinsaturados según las recomendaciones actuales (De Cos, 1998).

Otro autor, Román (1998), recomienda limitar la ingesta calórica derivada de la grasa a un 35% del contenido calórico total. La ingesta de ácidos grasos saturados la sitúa en un 8-12% del consumo calórico total. La ingesta de ácidos grasos poliinsaturados a un 6-10% del contenido calórico total, no superando el 10% pues puede asociarse a un descenso de los niveles de colesterol-HDL. No restringe el consumo de ácidos grasos monoinsaturados en los niños sanos. Por todos esto, el porcentaje de carbohidratos recomendado sería entre un 50-55%.

La *National Research Council* (NRC) recomienda el decremento total de la grasa, grasa saturada, y el colesterol de la dieta pues disminuyen la incidencia de enfermedades coronarias. Los niveles de colesterol en el suero se incrementan con la entrada de grasas saturadas y colesterol y disminuyen con la entrada de grasa poliinsaturada, mientras que no influye por la grasa monoinsaturada. La sustitución de carbohidrato por grasa saturada en la dieta tiende a reducir el nivel sérico de HDL (lipoproteínas de alta densidad) y LDL colesterol (lipoproteínas de baja densidad).

En contraste, la sustitución de grasa monoinsaturada o poliinsaturada por grasa saturada reduce los niveles de LDL sin apreciablemente bajar los niveles de HDL (Willet, 1994).

Whitaker y colaboradores (1994) en un estudio para describir las características demográficas de niños (471) que eligieron un menú bajo en grasa en el almuerzo del colegio, encuentran una asociación entre la selección de un almuerzo en el colegio de poca grasa y la presencia de un miembro de la familia con un elevado nivel de colesterol. Esto sugiere la posibilidad que el comportamiento en la dieta de los niños podría ser influenciada por la identificación de hipercolesterolemia como un factor de riesgo en la enfermedad cardiovascular en un miembro de la familia.

Así Keys (1995) hace un estudio de la dieta mediterránea donde observa la baja incidencia de enfermedades del corazón y afirma que ésta es baja en grasas saturadas y colesterol, donde existe gran cantidad de vegetales y frutas. Recomienda no comer tanta carne ni productos lácteos y sugiere llevar este mensaje a las escuelas.

La limitación del 10% de azúcares sencillos es debido a la poca capacidad saciante, dado su escaso volumen y gran densidad calórica, por lo que favorecen la obesidad.

El aporte de proteínas escaso produce una enfermedad conocida como *kwashiorkor*, con delgadez de extremidades y abultamiento del vientre. Sin embargo, en nuestra sociedad ocurre todo lo contrario siendo también perjudicial, pues esta hiperproteinemia en la dieta produce posibles pérdidas de calcio con desmineralizaciones óseas o alteraciones a largo plazo en la función renal secundarias a este consumo excesivo (Gargallo, 1998).

Al contrario, la cantidad habitual que se necesita diariamente de vitaminas suele ser muy pequeña. Se recomienda un mínimo de 400 g/día de frutas y hortalizas, de los cuales 30 g se realizarán a partir de leguminosas, frutos secos y semillas.

En 1993 se realizó una encuesta nutricional en Reus sobre niños preescolares, observándose que estos niños aunque presentaban una ingesta calórica total adecuada, la distribución de los principios inmediatos en la dieta no se ajustaba a las recomendaciones. Una elevada ingesta lipídica y baja ingesta de carbohidratos, también el consumo de ácidos grasos saturados era muy elevado.

También en otras encuestas realizadas sobre el área de Madrid en 1992 sobre la población preescolar, evidenciaba las mismas alteraciones en la distribución de los principios inmediatos.

En el estudio antropométrico nutricional realizado en 1991 por Vázquez y cols. sobre una muestra representativa de escolares de 6 a 14 años de la Comunidad Autónoma de Madrid, no se detectaron desnutriciones pero sí una tendencia al sobrepeso más acentuado en los varones.

El recordatorio de las 24 horas asistido por las muestras de comidas, es un método válido para valorar la ingesta diaria de los niños tan jóvenes de 8 años para el propósito de las comparaciones de grupo (Lytle, 1993).

Durante los últimos años el concepto de alcanzar unos mínimos nutricionales se ha ido sustituyendo en los países desarrollados por el de adecuar la dieta de la población de forma que gradue una adecuada relación de nutrientes así como un determinado aporte de energía. Así han surgido los llamados *objetivos nutricionales*. Su finalidad es lograr la prevención de las enfermedades crónicas y degenerativas relacionadas con los malos hábitos dietéticos como son ciertos tipos de cánceres, la cardiopatía isquémica, la diabetes, obesidad e hipercolesterolemia. Es evidente que la adquisición de una conducta alimentaria sana para que realmente tenga impacto preventivo tiene que empezar en la edad infantil, puesto que los hábitos adquiridos y practicados a lo largo de los años son muy difíciles de erradicar (tabla 21).

**Tabla 21. Objetivos nutricionales de ingesta
(modificado de OMS, 1990)**

ENERGÍA	Para mantener un índice de masa corporal ≤ 25
GRASA (% kcal totales)	
Total	≤ 30
Saturada	< 10
Poliinsaturada	3-10
Colesterol	< 300 mg/día
CARBOHIDRATOS (% kcal totales)	
Total	≥ 55
Complejos	≥ 45
Simples	≤ 10
FIBRA	≥ 27 g/día
PROTEÍNAS (% kcal totales)	10-15
SAL (g/día)	≤ 6

Conviene clasificar a los alimentos en sus constituyentes según su función fisiológica predominante. Los glúcidos y los lípidos se emplean como fuente de calorías, cumpliendo por tanto una misión energética. Las proteínas tienen la misión principal de aportar el sustrato para la renovación y crecimiento de las diferentes estructuras del organismo, función plástica o formadora. La función reguladora está cubierta por las vitaminas y por ciertos minerales como el Fe, I, Mg, Cl, Na, K, etc.

En España, desde los años sesenta el programa EDALNU (Educación en la Alimentación y Nutrición) adoptó el modelo de 7 grupos de alimentos, clasificando a los alimentos más habituales en nuestra tierra. A continuación se expone la tabla 22.

**Tabla 22. Grupos de alimentos
(Vivanco F, Palacios JM y García Almansa A)**

GRUPO 1º.	Leche y derivados (quesos y yogur)
GRUPO 2º.	Carnes, huevos y pescado
GRUPO 3º.	Papas, legumbres y frutos secos
GRUPO 4º.	Verduras y hortalizas
GRUPO 5º.	Frutas
GRUPO 6º.	Pan, pasta, cereales y azúcar
GRUPO 7º.	Grasas, aceite y mantequilla

Para conseguir un equilibrio dietético hemos de tener en cuenta el consumo de todo el día, de forma que no es preciso obtener un equilibrio en cada comida, sino que podemos compensar una ingesta con otra.

II.3.3. INTRODUCCIÓN AL ESTADO NUTRICIONAL

La nutrición es el conjunto de procesos mediante los cuales el ser vivo utiliza, transforma e incorpora en sus propias estructuras una serie de sustancias que recibe del mundo exterior formando parte de los alimentos, con objeto de cumplir tres finalidades principales:

1. Suministro de energía
2. Construcción y reparación de las estructuras orgánicas
3. Regulación de los procesos metabólicos

La salud nutricional se mantiene habitualmente de forma adecuada, logrando un equilibrio entre la ingesta (dieta) y la utilización de nutrientes en cada situación vital. Esto se traduce por el mantenimiento de una composición corporal correcta y constante y una adecuada biodisponibilidad de todos los nutrientes necesarios para el funcionamiento celular. (Vázquez C, 1998).

La mejora del estado nutricional en los países desarrollados, que va ligado a un aumento de las tasas de crecimiento durante la infancia, ha contribuido al descenso de las enfermedades infecciosas producido en el presente siglo. Por otra parte, durante las últimas décadas se ha adquirido conciencia de los nefastos efectos a largo plazo de la denominada *plétora alimentaria*, propia de los países desarrollados, y que se caracteriza por un exceso de alimentos demasiados calóricos y con un elevado contenido en grasas y azúcares y pobre en hidratos de carbono complejos.

La investigación epidemiológica ha evidenciado una estrecha y coherente asociación entre la instauración de este tipo de alimentación y el incremento de una serie de enfermedades crónicas no infecciosas, entre las que cabe citar a las llamadas *grandes asesinas de la civilización* (cardiopatías coronarias, enfermedades cerebrovasculares, algunos cánceres), la diabetes mellitus, la obesidad y la anorexia, cálculos biliares, caries, patologías digestivas y afecciones osteoarticulares. Hay una gran evidencia que vegetales y frutas nos protegen contra esas enfermedades (Willet, 1994).

A lo largo de las últimas décadas se han acumulado evidencias sobre la importancia que tiene una buena alimentación a lo largo de toda la vida, y especialmente en ciertas etapas del desarrollo. Durante la niñez y la adolescencia, una nutrición adecuada es fundamental para alcanzar el máximo desarrollo físico e intelectual y durante este período de la vida se establecen patrones de consumo que pueden contribuir, en la edad adulta, a la aparición de diversas enfermedades (Gorgojo, 1999).

Resulta de gran interés caracterizar la ingesta alimentaria especialmente durante la infancia y la edad escolar para extraer conclusiones operativas que puedan trasladarse a medidas de intervención (Gorgojo, 1999).

No es suficiente tener un mínimo de comida garantizado, sino saber “lo que se come”. Se trata de encontrar el punto de equilibrio entre el aporte calórico y los tipos de nutriente. La dieta mediterránea constituye una buena alternativa por la tasa de enfermedad coronaria extremadamente baja y el aumento de la esperanza de vida. Constituye una tradición centenaria que contribuye a una excelente salud, proporciona una sensación de placer de encontrarse bien y forma parte de la cultura mundial (Calañas A, 1998).

Es importante tener en cuenta que alimentar adecuadamente es algo más que proveer de alimentos suficientes para el crecimiento del cuerpo. En una alimentación adecuada intervienen además de una buena selección de alimentos, la situación socio-familiar, hábitos y costumbres, educación, nivel cultural, etc. A todo esto, hay que añadir la adaptación al momento fisiológico del niño, posibles situaciones especiales como preoperatorios, tratamientos con antibióticos, verano, períodos de mayor actividad física o psíquica etc., que a veces hacen obligado la suplementación o la modificación de la dieta habitual.

El estudio de Bogalusa puso de manifiesto que los niveles de colesterol plasmático al año de vida son proporcionales a la ingesta dietética de ácidos grasos saturados y colesterol, aunque el sustrato genético es de gran importancia.

II.3.4. ALIMENTACIÓN EN LA ETAPA DE PREESCOLAR

El preescolar se corresponde con el niño de 4 a 6 años que ya ha alcanzado una madurez completa de los órganos y sistemas que intervienen en la digestión, absorción y metabolismo de los nutrientes. Es un período de crecimiento más lento y estable que el precedente, en el que ganan una media de 2 kg de peso y de 5 a 6 cm de talla al año (Román, 1998).

Desde el punto de vista del desarrollo psicomotor ha alcanzado un nivel que le permite una correcta manipulación de los utensilios empleados durante las comidas, siendo capaz de usarlos para llevar los alimentos a la boca.

Una característica específica de esta edad es el rechazo a los alimentos nuevos dentro de una actitud global de temor a lo desconocido. Tiene capacidad para reconocer y elegir los alimentos de las distintas comidas al igual que el adulto.

Crear un ambiente alimentario positivo, desde el punto de vista físico y afectivo, es tan importante como aportar la cantidad adecuada de nutrientes. Un medio familiar estimulante favorecerá la estructuración de hábitos adecuados e incluso la adopción de pequeñas decisiones o elecciones en relación con su comida, de acuerdo a su etapa evolutiva (Aranceta, 1995).

La dieta del preescolar debe ser variada, incluyendo alimentos de todos los grupos, con el fin de conseguir un aporte de nutrientes satisfactorio. Es interesante establecer un horario regular de comidas, en el que se contemple la ración del desayuno, aunque el patrón de ingesta caprichoso y poco estable durante esta etapa, hace necesaria cierta flexibilidad en la composición de las raciones e incluir el consumo de pequeñas raciones entre horas (tabla 23) (Aranceta, 1995).

Tabla 23. Recomendaciones dietéticas para la edad preescolar.

Etapa evolutiva	Recomendaciones dietéticas
<p>ETAPA PREESCOLAR (4-6 años)</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Dieta variada -Ritmo regular de comidas -Flexibilidad -Textura adecuada -Raciones pequeñas -No forzar

La leche y productos lácteos deben estar presentes como 3 ó 4 raciones diarias; todos los días deberán consumirse dos raciones de alimentos proteicos (carnes, pescados, huevos), alterando entre sí. Los platos a base de carne es preferible que se preparen como albóndigas, filete ruso, pechuga de pollo, lomo u otras preparaciones de fácil masticación. Deben evitarse los fritos y los platos con salsas complicadas (Aranceta, 1995).

Hay que tener en cuenta la preparación de platos a base de pescado teniendo especial atención a las preparaciones culinarias sin espinas.

Deben ofertarse alimentos nuevos para el niño acompañados de otros que ya le sean familiares, para evitar el rechazo completo. Es preferible ofrecer los productos dulces como postre que fuera de las comidas.

Deben evitarse los alimentos viscosos y adherentes, de difícil eliminación de la cavidad bucal y con alto contenido en azúcares.

Es recomendable estimular la práctica de actividad física.

II.3.5. ALIMENTACIÓN DEL NIÑO DURANTE LA EDAD ESCOLAR

La etapa escolar, propiamente dicha, se extiende desde los 6 años hasta el inicio de la adolescencia, 10-12 en las niñas y 12-14 años en el varón. Podemos, a su vez, distinguir dos grupos diferentes: el de los niños de 7 a 10 años, que constituyen un grupo bastante homogéneo caracterizado por un crecimiento lento y estable con una ganancia media de 2.5 kg en peso y 5.5 cm en talla por año, y el grupo de los niños de 11 a 14 años que es mucho más heterogéneo, coexistiendo niños en diferentes estadios madurativos, algunos de los cuales están entrando en la adolescencia. (Román, 1998).

En esta etapa se consolidan los hábitos alimentarios y en este proceso tienen una importancia capital los factores educativos, tanto en el seno de la familia como en la guardería y en la escuela. La escolarización le permite adquirir cierto grado de autonomía en su alimentación, al realizar alguna de las comidas fuera de su casa, en los comedores escolares, sin supervisión familiar.

Habitualmente el horario de comidas tiende a ser más regular. Uno de los problemas que se plantea con mayor frecuencia es la omisión del desayuno, aduciendo para ello falta de tiempo, ausencia de la madre o persona responsable en casa por las mañanas antes de ir al colegio, o bien inicio de las clases a una hora muy temprana.

Debe evitarse el consumo de “calorías vacías” entre horas y favorecer la ingesta de pequeños bocadillos preparados en casa, frutas y lácteos con la merienda. Según Martín y cols. (1996) la desaparición del bocadillo a media mañana entre los escolares de EGB supone una merma en el aporte energético de primera hora y puede afectar al rendimiento escolar.

En la formación del gusto por determinados alimentos, y por tanto de los hábitos alimentarios, intervienen factores genéticos y ambientales o culturales, que en ocasiones son difíciles de distinguir entre sí.

En la tabla 24 se resume las características psicosomáticas de la edad escolar y algunas recomendaciones.

Tabla 24. Etapa escolar.

Etapa evolutiva	Cambios somáticos	Cambios psicosociales	Recomendaciones dietéticas
ETAPA ESCOLAR (6-12 años)	-Crecimiento estable -Proporciones corporales	-Escolarización -Influencia del medio familiar, colegio, amigos, TV, publicidad -Aumento del apetito	-Balance energético y proteico positivo -Fraccionamiento de la ingesta a lo largo del día -Promoción del consumo de frutas y verduras, respetando las preferencias -Limitar los dulces y bollería. -Fomentar la higiene bucodental -Promoción actividad física. -Educación nutricional

Fuente: Aranceta, 1996.

Dentro de los factores ambientales, la influencia de los compañeros y la importancia de la imitación desempeñan un papel esencial. Además, en el curso del proceso de socialización el niño consigue incorporar nuevos hábitos alimentarios que actúan sobre las prácticas alimentarias familiares. Por ello es fundamental que la familia, y principalmente la madre, sepa crear unos hábitos alimentarios saludables en su hijo y que éste reciba en la escuela el apoyo y la instrucción suficiente para desarrollarlos o modificarlos en el caso de que no fueran correctos (Hernández, 1999).

Puesto que muchos niños realizan la comida del mediodía en el colegio, la cena debe tener una composición complementaria, aportando elementos críticos. Para ello, es necesario que los padres conozcan la composición de los menús ofertados en el centro escolar. Es deseable que se alternen con mayor frecuencia carnes y pescados y que se incrementen los aportes de verduras y legumbres. No está justificado el consumo de leche descremada en la población infantil (Aranceta, 1996).

En el estudio de Andradas y cols. (1994) realizado a escolares resulta preocupante que el 10% de estudiantes refieren no tomar verdura nunca y, en general, se consumen con más frecuencia los alimentos ricos en grasa animal (carnes y huevos) que el pescado. También Casado y cols. (1999) observan un elevado consumo de carne y derivados en escolares de Zaragoza, así como de dulces y golosinas. Sin embargo, detecta un elevado consumo de fruta que podría corresponder a un efecto estacional (primavera-verano) y un adecuado consumo de leche y derivados.

Deben utilizarse preparaciones culinarias sencillas, que no precisen la adición de cantidades importantes de grasa en su elaboración. En este sentido, se recomienda la conveniencia de utilizar el aceite de oliva virgen frente a otro tipo de grasas.

El papel de la escuela es fundamental, y ha de conseguirse que los cumpla adecuadamente, a través de programas de educación nutricional integrados dentro de las enseñanzas regladas y mediante el comedor escolar, que debe ser un instrumento de educación sanitaria.

De esta forma el niño aprende que su estado de salud depende, en parte, de su comportamiento alimentario y podrá mejorar los hábitos dietéticos y llegar en un mejor estado nutricional a la edad adulta.

II.3.5.1. NECESIDADES NUTRICIONALES Y RECOMENDACIONES DIETÉTICAS.

El contenido total en nutrientes contenido en los alimentos depende de (Martínez, 1993):

- La calidad de la materia prima
- Condiciones de conservación
- Características y duración del procesado

II.3.5.1.1. AGUA

Las necesidades de agua a esta edad se estiman en 1-1.5 cc por kcal metabolizada (Hernández, 1999).

II.3.5.1.2. ENERGÍA

La estimación de las necesidades se ha realizado valorando las ingestas asociadas a un crecimiento normal. La recomendación de energía representa la media de las necesidades de una población de individuos sanos con un peso medio y talla adecuada para su edad y sexo.

En la tabla 25 y 26 se muestran las recomendaciones calóricas para los distintos grupos de edad junto al peso y talla medios según referencias americanas y españolas. De una forma aproximada se pueden calcular las necesidades energéticas según la fórmula: 1200 kcal + 100 kcal por año de edad (Hernández, 1999).

Tabla 25. Recomendaciones de energía.

Edad (años)	Peso medio (kg)	Talla media (cm)	Energía (kcal)	
			Por kg	Por día
4-6	20	112	90	1800
7-10	28	132	70	2000
11-14 (niños)	45	157	55	2500
11-14 (niñas)	46	157	47	2200

National Research Council. Food and Nutrition Board, RDA, 1989.

Tabla 26. Recomendaciones de energía.

Edad (años)	Energía	
	Kcal	KJ
4-5	1700	7113
6-9	2000	8368
10-12 (niños)	2450	10251
10-12 (niñas)	2300	9623
13-15 (niños)	2750	11506
13-15 (niñas)	2500	10460

Varela, 1994.

II.3.5.1.3. PROTEÍNAS

Las necesidades de proteínas vienen condicionadas por las demandas para un crecimiento adecuado y para mantener el contenido proteico del organismo, que alcanza un valor relativo similar al del adulto (18-19 %) a los 4 años.

En la tabla 27 y 28 se detallan las recomendaciones para las diferentes edades, dentro de un patrón de consumo de alimentos occidental, sin dietas extremas.

Tabla 27. Recomendaciones de proteínas.

Edad (años)	Peso medio (kg)	RDA	
		g/kg	g/día
4-6	20	1.1	24
7-10	28	1.0	28
11-14 (niños)	45	1.0	45
11-14 (niñas)	46	1.0	46

National Research Council. Food and Nutrition Board, RDA, 1989.

Tabla 28. Recomendaciones de proteínas.

Edad (años)	Proteína (g)
4-5	30
6-9	36
10-12 (niños)	43
10-12 (niñas)	41
13-15 (niños)	54
13-15 (niñas)	45

Varela, 1994.

Marchini y colaboradores (1994) explican que las recomendaciones para el consumo de proteínas depende de los aminoácidos esenciales, del contenido total de nitrógeno de la dieta y de la digestibilidad de la comida. Teniendo en cuenta los alimentos brasileños, los preescolares deben recibir de un 1,15 a 1,77 g proteína/kg/día y los escolares de un 1,04 a 1,59 g proteína/kg/día.

Las proteínas de origen animal, mucho más ricas en aminoácidos esenciales que las vegetales, deben proporcionar aproximadamente el 65 % de las necesidades proteicas en el preescolar y el 50 % en el adolescente.

En algunas circunstancias fisiológicas, como el ejercicio físico intenso, o patológicas, como el estrés producido por la infección, fiebre o trauma quirúrgico, aumentan las necesidades de proteínas así como las de energía.

Un exceso de ingreso proteico puede acelerar la esclerosis glomerular que conlleva el envejecimiento y aumentar la calciuria, lo que quizá pudiera contribuir a la osteoporosis. Por ello parece prudente no superar el doble de las recomendaciones aconsejadas (Hernández, 1999).

II.3.5.1.4. LÍPIDOS

Las recomendaciones vigentes en EEUU son de un 30% de la energía. En España, y debido al abundante consumo de aceite de oliva, se puede aumentar al 35-38%. Algunos grupos de estudio para la cardiopatía isquémica recomiendan bajar del 30% (De Cos, 1998).

El aporte de grasas saturadas supondrá menos del 10% del valor calórico total de la dieta y la ingesta de colesterol será inferior a 300 mg/día. Es importante aportar una cantidad de ácidos grasos poliinsaturados suficiente para evitar el déficit de ácidos grasos esenciales, pero sin pasar del 10% del aporte calórico total para evitar los riesgos que puede entrañar su exceso, como la peroxidación de los lípidos de las membranas celulares, y limitar la cantidad de ácidos trans (Hernández, 1999).

II.3.5.1.5. CARBOHIDRATOS

Al menos el 50% de la energía proporcionada por la dieta debe ser aportada en forma de hidratos de carbono, perfectamente de tipo complejo, con una cantidad adecuada de fibra. Se evitará un exceso de azúcares solubles, que contribuyen a incrementar la incidencia de caries (Hernández, 1999).

II.3.5.1.6. FIBRA DIETÉTICA

Es importante asegurar un aporte adecuado de fibra por su beneficioso efecto sobre la función intestinal y el metabolismo glucídico y lipídico. Una cantidad en gramos/día igual a la edad en años más 5 se considera suficiente (Román, 1998; Hernández, 1999).

II.3.5.1.7. VITAMINAS LIPOSOLUBLES

Las recomendaciones se han hecho extrapolando las cifras de adultos o de lactantes en función del peso para la edad, por falta de datos específicos para esta edad.

Hay que destacar la necesidad de un correcto aporte y absorción de grasas para conseguir el de vitaminas liposolubles.

II.3.5.1.8. VITAMINAS HIDROSOLUBLES

Hay muy pocos estudios realizados en niños de estas edades. Las recomendaciones se han estimado utilizando distintos criterios: en función del aporte energético para la tiamina, riboflavina, o niacina, o de la ingesta proteica para la vitamina B₆, o extrapolando los datos de lactantes o adultos y adaptándolos al peso para el resto.

En la tabla 29 y 30 se detallan las recomendaciones de vitaminas tanto las liposolubles como las hidrosolubles.

Tabla 29. Recomendaciones de vitaminas.

	4-6 años	7-10 años	Varones		Mujeres	
			11-14 años	15-18 años	11-14 años	15-18 años
Vitamina A (µg RE)	500	700	1000	1000	800	800
Vitamina D (µg)	10	10	10	10	10	10
Vitamina E (µg alfa-TE)	7	7	10	11	8	8
Vitamina K (µg)	20	30	45	65	5	55
Vitamina C (mg)	45	45	50	60	50	60
Tiamina (mg)	0.9	1.0	1.3	1.5	1.1	1.1
Riboflavina (mg)	1.1	1.2	1.5	1.8	1.3	1.3
Niacina (mg NE)	12	13	17	20	15	15
Vitamina B ₁₂ (mg)	1.1	1.4	1.7	2	1.4	1.5
Folato (µg)	75	100	150	200	150	180
Vitamina B ₆ (mg)	1.0	1.4	2.0	2.0	2.0	2.0

National Research Council. Food and Nutrition Board, RDA, 1989.

Tabla 30. Recomendaciones de vitaminas.

	4-5 años	6-9 años	Varones		Mujeres	
			10-12 años	13-15 años	10-12 años	13-15 años
Vitamina A (µg)	300	400	1000	1000	800	800
Vitamina D (µg)	10	5	5	5	5	5
Vitamina E (mg)	7	8	10	11	10	11
Vitamina C (mg)	55	55	60	60	60	60
Tiamina (mg)	0.7	0.8	1	1.1	0.9	1
Riboflavina (mg)	1	1.2	1.5	1.7	1.4	1.5
Niacina (mg)	11	13	16	18	15	17
Vitamina B ₁₂ (mg)	1.5	1.5	2	2	2	2
Folato (µg)	100	100	100	200	100	200
Vitamina B ₆ (mg)	1.1	1.4	1.6	2.1	1.6	2.1

Varela, 1994.

II.3.5.1.9. CALCIO

La adquisición de una adecuada masa ósea servirá para mantenerla a lo largo de la vida adulta, y para reducir al mínimo la pérdida ósea que tiene lugar durante el envejecimiento.

Las recomendaciones para el calcio varían según los diversos autores pero, en general, se aconseja un aporte de 800 mg/día hasta los 6 años, aumentándose hasta 1200 mg/día el depósito de calcio en el hueso hasta los 10 años. Desde los 11 años y hasta finalizar la adolescencia las necesidades aumentan a 1000 mg, pudiendo oscilar entre los 1200 a 1500 mg/día.

El calcio ingerido a través de los productos lácteos tiene un efecto más importante sobre la mineralización ósea y además favorece el desarrollo de una buena salud dental. A nivel de la cavidad oral actúa como tampón, disminuyendo la acidificación, aumenta la salivación y forma una película sobre el diente que disminuye la formación de la placa bacteriana (Román, 1998).

II.3.5.1.10. MINERALES

En la tabla 31 y 32 se detallan las recomendaciones de los principales minerales.

Tabla 31. Recomendaciones de minerales.

Edad (años)	Calcio (mg)	Fósforo (mg)	Magnesio (mg)	Hierro (mg)	Zinc (mg)	Yodo (µg)	Selenio (µg)
4-6	800	800	120	10	10	90	20
7-10	800	800	170	10	10	120	30
11-14 (niños)	1200	1200	270	12	15	150	40
11-14 (niñas)	1200	1200	280	15	12	150	45

National Research Council. Food and Nutrition Board, RDA, 1989.

Tabla 32. Recomendaciones de minerales.

Edad (años)	Calcio (mg)	Hierro (mg)	Yodo (µg)	Zinc (mg)
4-5	800	9	70	10
6-9	800	9	90	10
10-12 (niños)	1000	12	135	15
10-12 (niñas)	1000	18	115	15
13-15 (niños)	1000	15	135	15
13-15 (niñas)	1000	18	115	15

Varela, 1994.

II.3.5.2. DISTRIBUCIÓN DE LAS COMIDAS A LO LARGO DEL DÍA

Una vez establecida la cantidad de nutrientes necesaria, habrá que distribuir los alimentos teniendo en cuenta el nivel de actividad que el niño va a desarrollar a lo

largo del día. Por ello se aconseja aportar el 25% de las calorías en el desayuno, para así atender la actividad física e intelectual del niño en la escuela. Durante la comida se aportará el 30% del total calórico y no más para evitar la somnolencia postprandial que puede llegar a causar dificultades en el aprendizaje. En la merienda se consumirá el 15-20% y en la cena el 25-30% de los requerimientos calóricos. (Román, 1998 y Hernández, 1999).

En un estudio de Jacas y cols. un 92% de los escolares encuestados (1418 niños) comen algo antes de salir de casa por la mañana. El 93% merienda y de éstos un 73% se lo prepara en casa.

Es difícil delimitar la influencia de la nutrición sobre el desarrollo intelectual del niño sin tener en cuenta otros factores ambientales que intervienen simultáneamente. Se sabe que las situaciones de malnutrición prolongadas durante mucho tiempo modifican las capacidades intelectuales y algunos estudios sugieren que los niños que acuden al colegio sin desayunar obtienen un peor rendimiento en sus actividades escolares (Pollit, 1995).

II.3.5.3. OBJETIVOS NUTRICIONALES

Los objetivos nutricionales fundamentales de la etapa escolar son los siguientes:

- ↳ Conseguir un crecimiento adecuado
- ↳ Evitar los déficit de nutrientes específicos (hierro, flúor)
- ↳ Prevenir problemas de salud del adulto relacionados con la dieta: hipercolesterolemia, hipertensión arterial, obesidad, diabetes.

Hay que mantener un equilibrio nutritivo óptimo y garantizar un crecimiento armónico siendo indispensable un aporte mínimo de los distintos principios inmediatos y que éstos guarden entre ellos una adecuada proporción.

Así pues, se establecen una serie de normas para conseguir una dieta equilibrada: (Hernández, 1999)

1. Asegurar un aporte calórico suficiente, de acuerdo con la edad y la actividad física.
2. Mantener una correcta proporción entre los principios inmediatos.
3. Moderar el consumo de proteínas, procurando que éstas procedan de ambas fuentes: animal y vegetal, pero potenciando el consumo de cereales y legumbres frente a la carne. Para conseguirlo se deben aumentar los primeros platos y guarniciones, disminuyendo el tamaño del filete o el pescado.
4. Desaconsejar el consumo de la grasa visible de las carnes (saturada) y recomendar que se aumente el consumo de pescados, ricos en grasa poliinsaturada, sustituyendo a los productos cárnicos tres o cuatro veces a la semana. Potenciar el consumo del aceite de oliva frente al de otros aceites vegetales, mantequilla y margarinas. Restringir los productos de bollería industrial elaborados con grasas saturadas y no pasar de tres huevos a la semana para no sobrepasar las recomendaciones de ingesta de colesterol.
5. Fomentar el consumo de cereales y frutas, preferentemente frescas y enteras. Evitar el exceso de zumos no naturales y el consumo de carbohidratos simples, presentes en los productos industrializados, dulces o añadidos en forma de azúcar a los alimentos en el propio medio familiar.
6. Procurar que la dieta sea variada, con vistas a proporcionar un correcto aporte de vitaminas y oligoelementos. Como fuente de vitaminas liposolubles se debe estimular el consumo de hortalizas y verduras, en particular, las de hoja verde, los aceites vegetales, el huevo y los productos lácteos no descremados. Las distintas vitaminas hidrosolubles se encuentran en muy diversas fuentes: verduras, hortalizas, frutas, cereales no refinados, carnes, derivados lácteos y frutos secos. Para cubrir las necesidades de minerales, sobre todo de aquellos cuyo déficit es frecuente, es necesario un aporte suficiente de leche o derivados (como mínimo 500 ml). El consumo de carnes, principalmente rojas, es una magnífica fuente de hierro de fácil absorción, mientras que en las verduras, hortalizas y cereales la biodisponibilidad es mucho menor, aunque puede mejorarse por el consumo simultáneo de alimentos ricos en ácido ascórbico. El consumo de productos marinos o, en su defecto de sal suplementada impide el déficit de yodo y un ingreso adecuado de flúor disminuye la incidencia de caries.
7. Consumo moderado de sal.

Parece aconsejable limitar el consumo de productos de bollería y pastelería, ricos en azúcares refinados y grasas, que con frecuencia desplazan de la dieta de los escolares otros alimentos que por su densidad nutricional, son interesantes en la alimentación del niño. La invitación a participar en prácticas deportivas y el fomento de la actividad física es un complemento indispensable (Aranceta, 1996).

II.3.5.4. GUÍA DIETÉTICA PARA LA POBLACIÓN ESCOLAR

A modo de consejo práctico y de fácil comprensión, se propone una guía dietética para la población escolar y adolescente sugerida por Aranceta, Serra y Mataix. Se exponen de una forma gráfica, las proporciones de alimentos de los principales grupos que deben estar presentes en la dieta diaria de los niños (figura 5) y se acompaña de una tabla en la que se expresa la frecuencia de consumo recomendable para cada grupo de alimentos y el tamaño orientativo de las raciones (tabla 33).

Tabla 33. Frecuencia de consumo recomendable para cada grupo de alimentos y tamaño orientativo de las raciones.

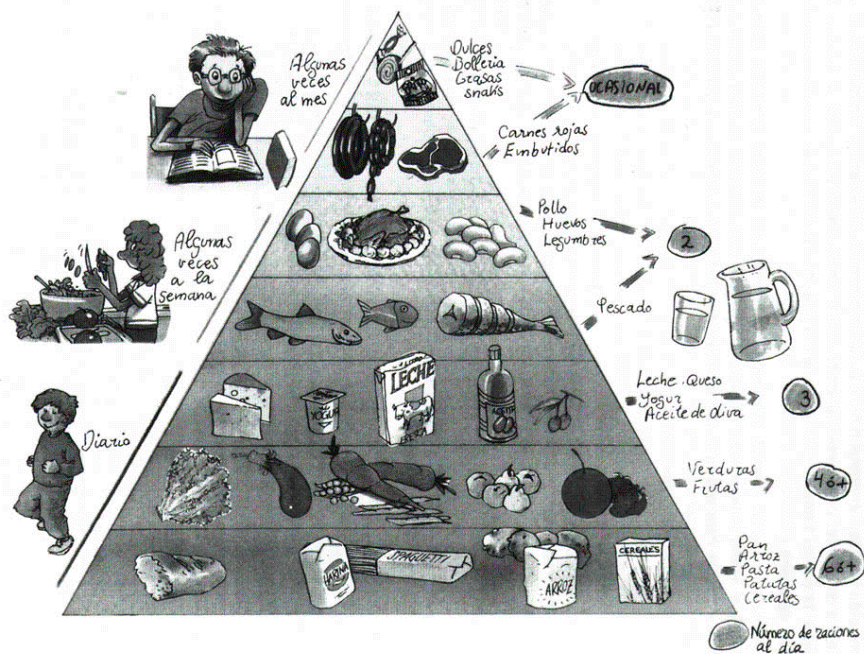
GRUPOS DE ALIMENTOS	FRECUENCIA DE CONSUMO	RACIÓN MEDIA*	COMEDOR ESCOLAR TAMAÑO RACIÓN POR GRUPOS DE EDAD#			
			< 6 años	6-8 años	9-11 años	≥ 12 años
Carnes	2/día	80-100	50	70	80	100
Pescados		100-150	60	65	80	90
Huevos		60	50	50	100	100
Leche	3-4/día	150-200	125	175	200	220
Queso		20-40	20	20	40	40
Yogur		50-150	125	125	125	125
Legumbres	3/semana	50-60	150	160	180	190
Hortalizas cocidas	≥ 1/día	150-200	150	200	220	250
Hortalizas frescas	≥ 1/día	30-70	20	20	50	75
Frutas	≥ 2/día	80-100	75	75	100	100
Cereales	≥ 6/día	50-80	100	120	150	160
Patatas		100-150	120	130	135	140
Pan		60-80	25	25	30	40

* Peso neto en crudo

Peso en cocinado

Figura 5. Pirámide de los alimentos para la población escolar.

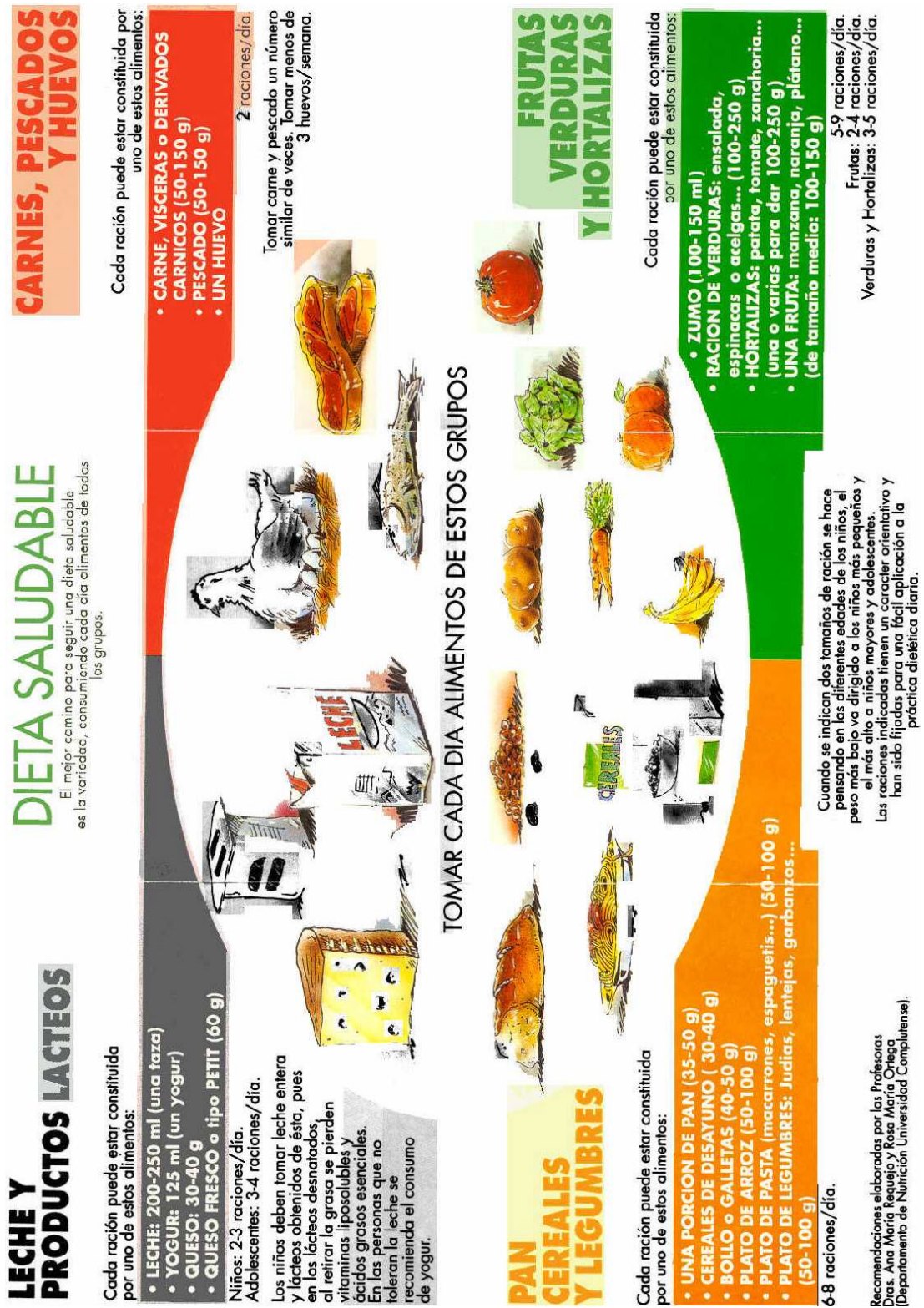
PIRAMIDE DE LOS ALIMENTOS PARA LA POBLACION ESCOLAR



Adaptado de: Aranceta J., Serra Ll., Pérez C., Mataix J. (SENC, 1995)

Hay otras recomendaciones elaboradas por las profesoras Doctoras Ana María Requejo y Rosa María Ortega del Departamento de Nutrición de la Universidad Complutense de Madrid para escolares madrileños como se observa en la figura 6.

Figura 6. Dieta saludable de escolares madrileños.



Recomendaciones elaboradas por las Profesoras Drs. Ana María Requero y Rosa María Ortega (Departamento de Nutrición Universidad Complutense).

II.3.6. PROPUESTA DE MENUS PARA COMEDORES ESCOLARES

La comida principal debe ofertar en torno al 30-35% de las necesidades de energía y nutrientes de la población usuaria.

La estructura básica de los menús puede estar formada por un primer plato alternante a partir de legumbres con verdura, diversos tipos de verdura con patatas, arroz o pasta. Un segundo plato alternante basado en carne magra, pescado variado o huevos, acompañado siempre de un suplemento de ensalada o guarnición de verduras. El postre estará formado a base de lácteos y/o una pieza de fruta. La bollería y pastelería no tienen cabida en este tipo de menús, salvo esporádicamente. Como bebida se ofrecerá siempre agua, en algunas circunstancias puede ofertarse leche o zumo de frutas. Un día a la semana sería deseable aportar pan integral junto con el pan blanco para consumo optativo voluntario (Aranceta et al, 1988).

En un estudio de Pena y cols. (1996) de los hábitos alimentarios de escolares de zonas rurales se encuentra que el 82% de la comida de los colegios es incorrecta, con pocas legumbres, fruta y vegetales en los menús.

En los comedores escolares se debe proponer un menú adaptado en cuanto a forma de preparación culinaria y textura para los niños menores de 6 años y otro menú (que puede ser el mismo pero con otra textura) para niños entre 6 y 16 años.

La presentación de los platos y su aspecto contribuye decisivamente para su aceptación. Es conveniente que las ensaladas se preparen en trocitos pequeños, facilitando así su consumo por parte de los escolares.

Se aconseja que la finalización del cocinado de los alimentos esté lo más próxima posible a su consumo. De cualquier forma el núcleo de los alimentos debe de permanecer a una temperatura mínima de 70°C. Las raciones que se preparan

deben calibrarse funcionalmente para que no existan restos excesivos de comida en los platos y sobras en los aportes del comedor.

Todos los centros de restauración social tienen una oferta limitada de menús, esto es, el comensal debe comer el menú del día o en todo caso, puede elegir entre una cantidad pequeña de platos alternativos. En este caso, es imprescindible contar en cada centro con un profesional de la dietética o nutrición que supervise o diseñe los aportes ofertados. El diseño de menús para las cocinas autónomas o para las empresas de restauración colectiva, deberá complementarse con dos bloques adicionales.

Por un lado, unas recomendaciones vinculantes para las empresas en cuanto a las cantidades mínimas de plato elaborado para cada grupo de edad, la textura y forma de presentación, los aportes grasos y tipo de aceite a utilizar, prohibición de mayonesas, cremas y productos de bollería, utilización de huevo pasteurizado y carnes magras y una especial vigilancia en la manipulación.

Por otro lado, aportar a cada alumno una planilla de menús vigentes por mes, que deberá ir acompañada por una guía nutricional dirigida a los padres donde se incluirán las recomendaciones oportunas para la complementación correcta del menú escolar con las raciones domésticas.

II.3.7. EDUCACIÓN NUTRICIONAL EN EL MEDIO ESCOLAR

La primera educación nutricional recibida se realiza en el contexto familiar siendo esta fuente de educación sanitaria de la población muy importante. A continuación le sigue en importancia la educación nutricional escolar, debido a que los escolares son el grupo social más receptivo de la comunidad.

En un estudio de McGinnis de 1993 sobre prevención de la salud en Washington DC, se pone de manifiesto la necesidad de la implantación de unos programas extensos de salud en el colegio como uno de los desafíos para los noventa y más allá. Este desafío se realiza a través de combinados esfuerzos de sectores de educación y salud trabajando como *socios* en el plano nacional, estatal, niveles comunitarios y quizás en el nivel más importante, la primaria y la secundaria en los colegios.

La función primaria de la alimentación es proporcionar al organismo todos los nutrientes y elementos que necesita para crecer, desarrollar y renovar las estructuras, mantener las funciones vitales, la actividad física y una vida satisfactoria. Cada día se conoce mejor la influencia de la dieta y de los hábitos alimentarios sobre la salud.

Los niños adquieren sus patrones de conducta, estilos de vida y también sus hábitos alimentarios a medida que crecen y definen su personalidad. Cuando el niño es pequeño no puede elegir lo que come, son los padres los que forman la conducta del niño al comienzo, pero en el colegio la relación con los compañeros, profesores, cuidadoras, etc. juega un papel fundamental en el hábito alimentario del escolar. Es importante señalar aquí la importancia de la televisión, ya que la publicidad influye decididamente en el consumo de ciertos alimentos.

Un estudio realizado a 240 niños suecos de la escuela primaria mostró la importancia que tienen los problemas en la infancia por no comer con mayores problemas en el comportamiento. Se encontró también que la clase social más baja, los inmigrantes y el género masculino, fueron cada uno relacionado con un alto

marcador de problemas en la conducta. Y observó que un niño de tres elegidos muestra una conducta en casa, otra en el colegio, o ambas (Rydell, 1994).

La edad escolar es una etapa de gran interés para promover la adquisición de conocimientos, potenciara habilidades y tender hacia una alimentación equilibrada, capacitando al niño de tomar decisiones por sí solo. Los hábitos adquiridos en este período de alguna manera van a constituir normas para una conducta que puede perdurar en el tiempo (Aranceta, 1995).

En la escuela existen diferencias entre los cursos de mayores, cuyas materias de ciencias suelen incluir nutrición, y los menores, cuyos profesores son generalistas sin preparación en las cuestiones nutricionales. Al ser muy importantes los primeros años escolares pues en ellos se empiezan a establecer los hábitos alimentarios, existe el interés en instaurar desde el principio de la escolarización la educación nutricional (Rivero, 1993).

En la educación nutricional tienen que haber varias etapas:

1. Evaluación para hacer el diagnóstico, en la escuela y en la familia.
2. Desarrollo de actividades en los distintos entornos.
3. Resultados alcanzados en función de los objetivos diseñados.

Los centros escolares deben de elaborar unas *normas* respecto al tipo de alimentos que se consumen en el centro, formas y lugares para adquirirlo.

Los mensajes dirigidos a los niños deben contemplar los alimentos, su preparación y el momento de su consumo desde una orientación positiva y como un aspecto enriquecedor y divertido del modo de vida.

En el niño preescolar debe actuarse apoyando el inicio de su independencia, ayudándole para que pueda comer solo, sentado en la mesa y supervisado por un adulto. Aunque su desarrollo motor le permite la utilización de los utensilios empleados en la alimentación, hay que adaptarlos a sus características, de material irrompible, con base ancha, puntas romas y mangos cortos.

La preparación de los alimentos debe ser tal que su masticación sea lo más fácil posible. Recordar el rechazo hacia los alimentos nuevos, por lo que, deben servirse junto a otros ya muy conocidos (Román, 1998).

En el niño escolar, la educación nutricional debe incluirse dentro de los programas de enseñanza, ya que estos conocimientos son fundamentales en la adquisición de hábitos dietéticos favorables a la salud y que dificulten la aparición de enfermedades degenerativas.

En los niños el deseo de crecer es el más importante, así que lo hemos de tener en cuenta y relacionar esta motivación con los hábitos que queremos inculcar. Otras motivaciones como sentirse útil, tener buena presencia, conseguir éxitos en los estudios, etc., son también válidos pues son reflejo de un deseo fundamental del ser humano y que se le reconozcan los méritos personales (Rivero, 1993).

Es necesario que los padres reciban información detallada de los menús escolares para que en las comidas que el niño realiza en casa, poder establecer las variaciones oportunas que hagan la dieta más apetecible e incluso compensen algún déficit si éste existiera (Román, 1998).

No debe olvidarse la promoción de una adecuada actividad física que le lleve a desarrollar al máximo su masa ósea ni tampoco dejar de favorecer la adquisición de los buenos hábitos de higiene bucodental.

El estudio de evaluación del estado nutricional de la población escolar de Bilbao permitió identificar los principales problemas nutricionales existentes. Los resultados mostraban patrones bien diferenciados en relación con el nivel socioeconómico, delimitados en zonas y barrios concretos de la ciudad. Mientras la mayor parte de los sectores reflejaban situaciones compatibles con las denominadas “sociedades de la abundancia”, las zonas deprimidas de la villa reclamaban la necesidad de actuación urgente desde los centros escolares (Aranceta, 1988).

La educación escolar, aunque fundamental, puede ser insuficiente para erradicar ciertos hábitos fuertemente arraigados en las diferentes culturas e incluso estimulados por la publicidad. Debido a ello, la actuación de los educadores y sanitarios corre el riesgo de abocar al fracaso si se lleva a cabo de forma aislada. Es necesario desplegar simultáneamente programas de educación para la salud en la comunidad, implicando a las familias así como establecer una sólida coordinación entre los representantes de las administraciones educativas y sanitarias (Merelles, 1998; Pérula, 1998).

Ruano y Serra (1997) en un estudio de hábitos de vida de escolares catalanes muestran que mayor parte de los anuncios comerciales que ve el niño en la televisión versan sobre productos alimentarios, especialmente refrescos, cereales azucarados, dulces, helados o comidas rápidas. Esta presión publicitaria influye más en los hábitos de consumo cuanto más bajo es el nivel socioeconómico y educacional de la familia.

También Casado y cols. (1999) informan de cómo la publicidad llega a influir en más del 40% de la población en la elección de los alimentos. Esta cifra es realmente importante considerando que, con frecuencia, los productos alimenticios publicitados se corresponden con un patrón poco recomendable, con abundantes calorías y azúcares, escasa fibra y presencia de grasas saturadas.

Los educadores deben estar preparados para transmitir conocimientos sobre alimentación y nutrición que estimulen a los niños a indagar la composición de los alimentos y las funciones que éstos realizan en el organismo, qué alimentos y bebidas son más necesarios para su edad y cuáles no deben tomar nunca, cómo preparar, manipular y conservar los alimentos, cómo organizar la cesta de la compra, cómo interpretar las etiquetas, qué son los aditivos, cómo repercuten en la salud y qué alternativas existen, cómo analizar la publicidad de productos alimentarios, cómo plantear reclamaciones y denuncias, cuál es el papel de las asociaciones de consumidores, etc (Merelles, 1998).

Todas las actividades de educación nutricional tienen que evaluarse, es decir, hay que medir si se ha conseguido variar los hábitos alimentarios, medir el impacto de las actuaciones y a largo plazo ver el efecto positivo en la salud.

Para que los conocimientos que reciban los niños no choquen con un ambiente familiar contrario que disminuya o anule la labor de los profesionales, los padres también deben recibir orientación en alimentación.

En un estudio realizado en la población de dos colegios del sur de Madrid se valoró la influencia que un programa de educación nutricional tenía sobre los hábitos de consumo. Se observó un exceso de bollería, golosinas y fritos; y una deficiencia en lácteos, verduras, frutas y pescado. El programa educativo tuvo una influencia positiva al disminuir el consumo de bollería y golosinas y así una mejoría del perfil lipídico (Vázquez, 1996).

MATERIAL Y MÉTODOS

III.1. INTRODUCCIÓN

Las técnicas de análisis microbiológico de los alimentos tratan de evaluar el riesgo potencial que representan para la salud del consumidor la presencia de microorganismos patógenos o de sus toxinas en los alimentos. Los procesos de elaboración, distribución, almacenamiento y la preparación para el consumo, pueden hacer disminuir, mantener o incrementar el número de microorganismos presentes.

La multiplicación de los microorganismos en el alimento puede implicar desde una alteración inapreciable hasta su deterioro completo y puede ser, en cualquier caso, una vía de transmisión de enfermedades. Por el contrario, en otras ocasiones la alteración resulta beneficiosa debido a la adquisición de nuevas propiedades fisicoquímicas de interés organoléptico o de conservación

La alimentación en la edad escolar debe proporcionar un balance positivo de nutrientes estructurales, con el fin de satisfacer la acumulación de energía que precede al brote puberal. Así, con un buen conocimiento del menú escolar por parte de las familias se consigue cuidar que los aportes nutricionales sean correctos y adecuados en lo posible a las preferencias alimentarias predominantes en el colectivo escolar.

Pero se deben cuidar las prácticas sanitarias e higiénicas en estos comedores escolares vigilando se utilicen materias primas de calidad, las instalaciones estén de acuerdo a las normas establecidas al respecto, los alimentos se elaboren siguiendo recetas sanas, el personal manipulador no cometa faltas de higiene y acuda con ropa adecuada y de uso exclusivo.

III.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS SERVIDOS EN COMEDORES ESCOLARES

III.2.1. MUESTREO

Hemos de distinguir el número de colegios seleccionados para el estudio y el número de muestras recogidas en éstos.

III.2.1.1. Selección de colegios a incluir en el estudio

Según la información publicada en el Boletín Oficial de Canarias (BOC) nº116, Miércoles 11 de Septiembre de 1996: *Resolución de 29 de Agosto de 1996, de la Dirección General de Promoción Educativa, por la que se dictan instrucciones para la gestión y funcionamiento de los comedores escolares y se autorizan las variaciones en el número de comensales de los comedores de diversos centros públicos para el curso escolar 1996/97* la relación de colegios con su municipio, gestión y cantidad de comensales son los siguientes:

<u>NÚMERO</u>	<u>NOMBRE DEL CENTRO</u>	<u>MUNICIPIO</u>	<u>GESTIÓN</u>	<u>NÚMERO NIÑOS</u>
1	ARMEÑIME	ADEJE	CONTRATO	70
2	LOS OLIVOS	ADEJE	DIRECTA	250
3	TIJOCO DE ABAJO	ADEJE	DIRECTA	170
4	ANDRÉS OROZCO	ARAFO	CONTRATO	40
5	VILLA DE ARICO	ARICO	DIRECTA	60
6	NTRA. SRA. DE LA LUZ	ARICO	DIRECTA	100
7	ARONA	ARONA	CONTRATO	60
8	CABO BLANCO	ARONA	DIRECTA	60
9	CHAYOFA	ARONA	CONTRATO	26
10	LOS CRISTIANOS	ARONA	CONTRATO	53
11	EL FRAILE	ARONA	DIRECTA	140
12	PÉREZ VALERO	ARONA	DIRECTA	150
13	PLAYA DE LAS AMÉRICAS	ARONA	CONTRATO	220
14	VALLE SAN LORENZO	ARONA	CONTRATO	140
15	LA CUESTA	BUENAVISTA	CONTRATO	80

16	NICOLÁS DÍAZ DORTA	BUENAVISTA	DIRECTA	180
17	IGUESTE	CANDELARIA	DIRECTA	115
18	PRÍNCIPE FELIPE	CANDELARIA	DIRECTA	250
19	LEONCIO RODRÍGUEZ	EL ROSARIO	DIRECTA	250
20	LOMO PELADO	EL ROSARIO	CONTRATO	90
21	SAN ISIDRO	EL ROSARIO	DIRECTA	370
22	NTRA. SRA. DE LOS ÁNGELES	EL SAUZAL	DIRECTA	265
23	MIGUEL DE CERVANTES	EL TANQUE	DIRECTA	250
24	GUAJARA	FASNIA	DIRECTA	100
25	ANTONIO VALLE MENÉNDEZ	GARACHICO	DIRECTA	80
26	ABONA	GRANADILLA	DIRECTA	230
27	GRANADILLA DE ABONA	GRANADILLA	DIRECTA	350
28	JUAN GARCÍA PÉREZ	GRANADILLA	DIRECTA	300
29	LA PASADA	GRANADILLA	CONTRATO	100
30	LOS ABRIGOS	GRANADILLA	CONTRATO	
31	ADORACIÓN RODRÍGUEZ	GUIA DE ISORA	CONTRATO	115
32	ALMÁCIGO	GUIA DE ISORA	DIRECTA	300
33	APONTE	GUIA DE ISORA	DIRECTA	200
34	LA CUMBRITA	GUIA DE ISORA	DIRECTA	200
35	TEOBALDO POWER	GUIA DE ISORA	DIRECTA	200
36	AGACHE	GUIMAR	CONTRATO	102
37	ALFONSO X EL SABIO	GUIMAR	CONTRATO	150
38	HERNÁNDEZ MELQUE	GUIMAR	CONTRATO	100
39	JULIÁN ZAFRA MORENO	GUIMAR	DIRECTA	130
40	BALDOMERO BETHENCOURT	ICOD DE LOS VINOS	CONTRATO	13
41	CAMPINO	ICOD DE LOS VINOS	CONTRATO	65
42	EMETERIO GUTIÉRREZ ARBEL	ICOD DE LOS VINOS	DIRECTA	160
43	JULIO DELGADO DELGADO	ICOD DE LOS VINOS	DIRECTA	150
44	NICOLÁS ESTÉVEZ BORGES	ICOD DE LOS VINOS	DIRECTA	180

45	LA VEGA MOLLEDO	ICOD DE LOS VINOS	CONTRATO	180
46	PLUS ULTRA	LA GUANCHA	DIRECTA	275
47	AGUERE	LA LAGUNA	CONTRATO	100
48	ÁNGELES BERMEJO	LA LAGUNA	DIRECTA	250
49	AYATIMAS	LA LAGUNA	DIRECTA	300
50	CAMINO LA VILLA	LA LAGUNA	CONTRATO	170
51	CAMINO LARGO	LA LAGUNA	CONTRATO	200
52	JOSÉ DE ANCHIETA	LA LAGUNA	CONTRATO	70
53	LOPE DE GUERRA	LA LAGUNA	DIRECTA	140
54	MARINA CEBRIÁN	LA LAGUNA	DIRECTA	170
55	LAS MERCEDES	LA LAGUNA	DIRECTA	190
56	MONTAÑA PACHO	LA LAGUNA	DIRECTA	250
57	NARCISO BRITO	LA LAGUNA	DIRECTA	215
58	OFRA BARRIO NUEVO	LA LAGUNA	CONTRATO	50
59	PRÁCTICAS ANEJA	LA LAGUNA	DIRECTA	340
60	PRINCESA TEJINA	LA LAGUNA	DIRECTA	450
61	ATLANTIDA	LA LAGUNA	CONTRATO	
62	LAS CHUMBERAS	LA LAGUNA	CONTRATO	
63	PUNTA HIDALGO	LA LAGUNA	CONTRATO	120
64	SAN BARTOLOMÉ	LA LAGUNA	CONTRATO	250
65	SAN BENITO	LA LAGUNA	CONTRATO	100
66	SAN LUIS GONZAGA	LA LAGUNA	DIRECTA	250
67	SAN MATÍAS	LA LAGUNA	DIRECTA	215
68	SANTA ROSA DE LIMA	LA LAGUNA	CONTRATO	200
69	ACENTEJO	LA MATANZA	DIRECTA	150
70	ATALAYA	LA MATANZA	DIRECTA	125
71	AGUAMANSA	LA OROTAVA	DIRECTA	150
72	BENIJOS	LA OROTAVA	DIRECTA	221
73	CAMINO DE CHASNA	LA OROTAVA	DIRECTA	150
74	LA CONCEPCIÓN	LA OROTAVA	DIRECTA	130
75	INOCENCIO SOSA HERNÁNDEZ	LA OROTAVA	CONTRATO	90
76	LEONCIO ESTÉVEZ LUIS	LA OROTAVA	DIRECTA	230
77	LA LUZ	LA OROTAVA	DIRECTA	150
78	MANUEL DE FALLA	LA OROTAVA	DIRECTA	420
79	SAN AGUSTÍN	LA OROTAVA	DIRECTA	145
80	SANTA TERESA DE JESUS	LA OROTAVA	CONTRATO	100
81	SANTO TOMÁS DE AQUINO	LA OROTAVA	CONTRATO	115
82	PRÍNCIPE FELIPE	LA VICTORIA	DIRECTA	95
83	SANTO DOMINGO	LA VICTORIA	DIRECTA	200
84	LA FERRUJA	LOS REALEJOS	DIRECTA	50

85	PALO BLANCO	LOS REALEJOS	DIRECTA	300
86	LA PARED	LOS REALEJOS	DIRECTA	290
87	AREGUME	LOS SILOS	DIRECTA	80
88	LAS SALINAS	LOS SILOS	CONTRATO	80
89	CÉSAR MANRIQUE	PTO. CRUZ	DIRECTA	150
90	CLARA MARRERO	PTO. CRUZ	CONTRATO	50
91	SAN ANTONIO	PTO. CRUZ	CONTRATO	150
92	LA VERA	PTO. CRUZ	CONTRATO	130
93	ÁNGEL GUIMERÁ	S.J.RAMBLA	DIRECTA	125
94	FRANCISCO AFONSO CARRILLO	S.J.RAMBLA	DIRECTA	250
95	ALONSO ESPÍNOLA	S/C TENERIFE	CONTRATO	130
96	BETHENCOURT Y MOLINA	S/C TENERIFE	DIRECTA	100
97	EL CHAPATAL	S/C TENERIFE	CONTRATO	200
98	LAS DELICIAS	S/C TENERIFE	CONTRATO	140
99	EL DRAGUILLO	S/C TENERIFE	CONTRATO	50
100	HERMANOS TABARES BARTLET	S/C TENERIFE	CONTRATO	40
101	ISABEL SARMIENTO	S/C TENERIFE	CONTRATO	70
102	MATÍAS LLABRÉS VERDÚN	S/C TENERIFE	CONTRATO	40
103	OFRA VISTABELLA	S/C TENERIFE	CONTRATO	125
104	RAFAEL GABIÑO DEL BOSQUE	S/C TENERIFE	CONTRATO	70
105	RODRÍGUEZ GALVÁN	S/C TENERIFE	CONTRATO	300
106	SANTA CRUZ DE CALIFORNIA	S/C TENERIFE	DIRECTA	250
107	SANTA MARÍA DEL MAR	S/C TENERIFE	CONTRATO	100
108	SECUNDINO DELGADO	S/C TENERIFE	CONTRATO	300
109	EL TABLERO	S/C TENERIFE	CONTRATO	225
110	TÍNCER	S/C TENERIFE	DIRECTA	250
111	VERODES	S/C TENERIFE	CONTRATO	80
112	25 JULIO	S/C TENERIFE	CONTRATO	
113	JUAN BETHENCOURT ALFONSO	SAN MIGUEL	DIRECTA	300
114	SAN MIGUEL ARCÁNGEL	SAN MIGUEL	DIRECTA	300
115	LA CORUJERA	STA. ÚRSULA	DIRECTA	100
116	MENCEY BENCOMO	STA. ÚRSULA	CONTRATO	80
117	SAN FERNANDO	STA. ÚRSULA	DIRECTA	75
118	SANTA ÚRSULA	STA. ÚRSULA	CONTRATO	80
119	TAMAIMO	STGO. TEIDE	DIRECTA	250

120	AGUA GARCÍA	TACORONTE	DIRECTA	275
121	BARRANCO LAS LAJAS	TACORONTE	CONTRATO	110
122	ERNESTO CASTRO FARIÑAS	TACORONTE	DIRECTA	250
123	GUAYONGE	TACORONTE	DIRECTA	130
124	MARÍA ROSA ALONSO	TACORONTE	DIRECTA	190
125	MAXIMILIANO GIL	TACORONTE	DIRECTA	150
126	SAN JUAN PERALES	TACORONTE	DIRECTA	150
127	FRANCISCA SANTOS MELIÁN	TEGUESTE	CONTRATO	150
128	M. CARMEN FDEZ MELIÁN	TEGUESTE	CONTRATO	230
129	MELCHOR NÚÑEZ	TEGUESTE	CONTRATO	50
130	PORTEZUELO	TEGUESTE	CONTRATO	40
131	TEÓFILO PÉREZ	TEGUESTE	DIRECTA	350

A su vez, la Consejería de Educación, Cultura y Deportes del Gobierno de Canarias en la sección de “inspección de E.G.B.” distribuye los colegios, por zonas geográficas estableciendo un número de 13 zonas para agruparlos de la siguiente forma:

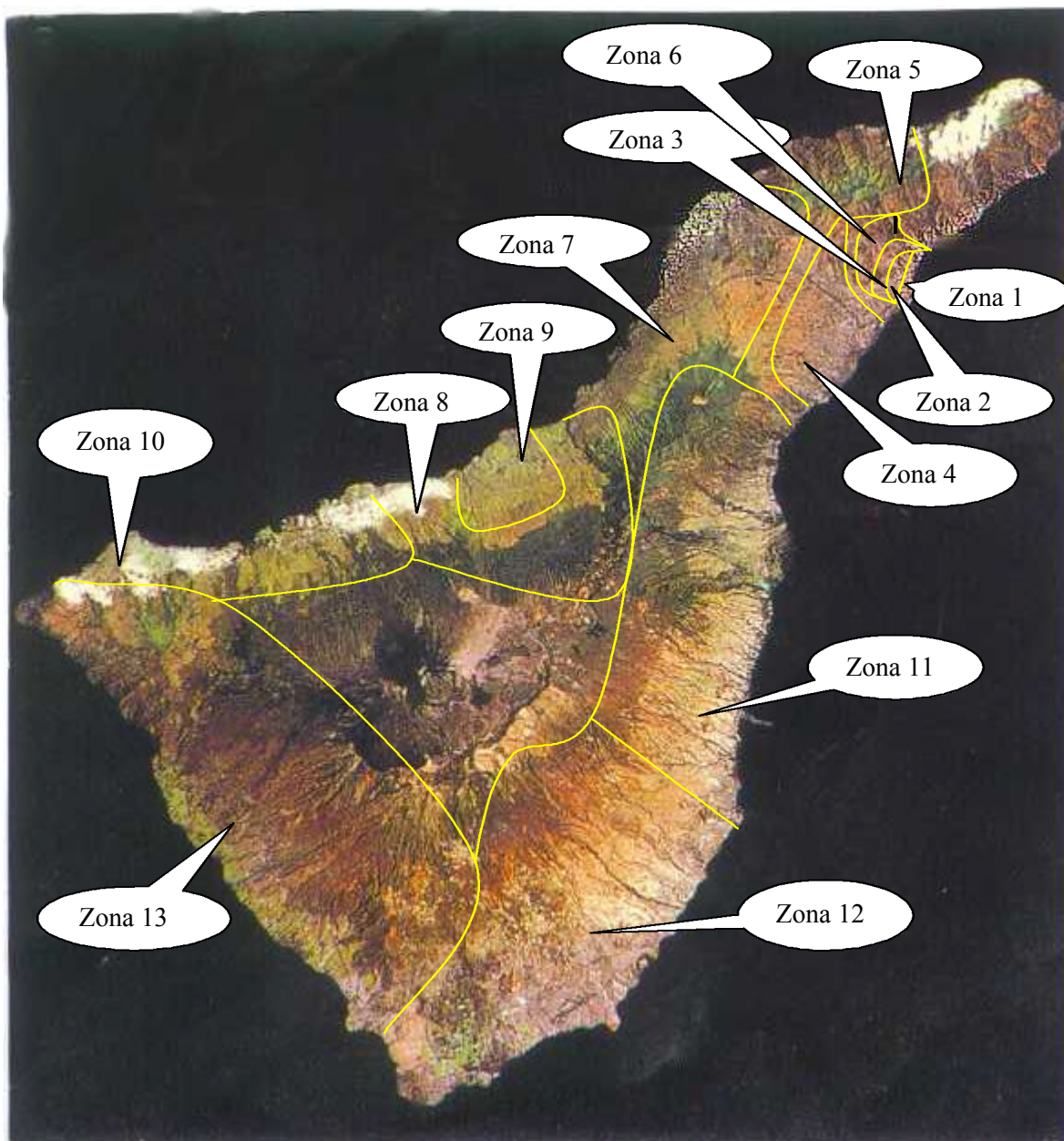
- Zona 1: 4 colegios ⇒ *Rafael Gaviño, Alonso Espinola, M^a Isabel Sarmiento y El Chapatal.*
- Zona 2: 3 colegios ⇒ *Las Delicias, Ofra Vistabella y Verodes.*
- Zona 3: 6 colegios ⇒ *Angeles Bermejo, Hermanos Tabares, 25 de Julio, Rodríguez Galván, Narciso Brito y Ofra Barrio Nuevo.*
- Zona 4: 11 colegios ⇒ *Marina Cebrián, San Luis Gonzaga, Bethencourt y Molina, San Isidro, Santa M^a del Mar, Santa Cruz de California, San Matías, El Draguillo, Tincer, El Tablero y Secundino Delgado.*
- Zona 5: 16 colegios ⇒ *Las Mercedes, Punta del Hidalgo, San Bartolomé, Lope de Guerra, Leoncio Rodríguez, Lomo Pelado, Melchor Nuñez, Portezuelo, Francisca Santos, Teófilo Pérez, Princesa Tejina,*

Atlántida, Ayatimas, Carmen Fernández Melián, Matías Llabres y Camino Largo.

- Zona 6: 8 colegios ⇒ *Santa Rosa de Lima, San Benito, Prácticas Aneja, Las Chumberas, Montaña Pacho, Aguerre, Jose de Anchieta y Camino La Villa.*
- Zona 7: 16 colegios ⇒ *Acentejo, La Corujera, Santa Úrsula, San Fernando, Ntra. Sra. de los Angeles, Agua García, Barranco Las Lajas, Ernesto Castro Fariña, San Juan Perales, M^a Rosa Alonso, Príncipe Felipe(La Victoria), Guayonge, Maximiliano Gil, Santo Domingo, Mencey Bencomo y Atalaya.*
- Zona 8: 14 colegios ⇒ *Plus Ultra, Manuel de Falla, Leoncio Estévez Luis, La Luz, San Agustín, Ntra. Sra. de la Concepción, Sta. Teresa de Jesus, Inocencio Sosa Hernández, Francisco Afonso, Angel Guimerá, Camino de Chasna, Benijos, Santo Tomás de Aquino y Aguamansa.*
- Zona 9: 7 colegios ⇒ *César Manrique, La Vera, La Pared, Palo Blanco, Ferrujas, San Antonio y Clara Marrero.*
- Zona 10: 12 colegios ⇒ *Nicolás Díaz Dorta, Antonio del Valle, Campino, Julio Delgado, Emeterio Gutierrez, Nicolás Estévez, Aregume, Miguel de Cervantes y Baldomero Bethencourt.*
- Zona 11: 10 colegios ⇒ *Andrés Orozco, Villa de Arico, Ntra. Sra. de la Luz, Príncipe Felipe(Candelaria), Igueste, Guajara, Alfonso X El Sabio, Julián Zafra Moreno, Hernández Melque y Agache.*
- Zona 12: 12 colegios ⇒ *Arona, Cabo Blanco, Valle San Lorenzo, Juan García, San Miguel, Juan Bethencourt, Granadilla de Abona, Los Abrigos, Abona, El Fraile, La Camella y La Pasada.*
- Zona 13: 12 colegios ⇒ *Armeñime, Tijoco de Abajo, Pérez Valero, La Cumbrita, Almácigo, Teobaldo Power, Tamaimo, Adoración Rodríguez, Los Olivos, Aponte, Playa de las Américas y Los Cristianos.*

En la figura 7 se hace un esquema de la distribución de las zonas en la isla de Tenerife por la Conserjería de Educación, Cultura y Deportes del Gobierno de Canarias.

Figura 7. Mapa de Tenerife distribuido en zonas.



En nuestro estudio para seleccionar los colegios se han agrupado en tres grandes áreas geográficas: zona Norte, zona Sur y zona Santa Cruz - La Laguna y dentro de cada una de estas tres zonas se realiza un Muestreo Probabilístico Aleatorio Estratificado.

Se seleccionan un total de 101 colegios de los 131 existentes, 58 de 73 existentes de gestión directa (elaboración de la comida en el propio colegio) y 43 de 58 de contratada (comidas servidas por catering).

1. La **zona Santa Cruz - La Laguna** con un total de 21 colegios, 17 de gestión contratada y 4 de directa, se eligen aleatoriamente 16, 12 contratada y 4 directa, repartidos de la siguiente manera:

- Zona 1: 2 colegios (contratada) ⇒ *Alonso Espinola y El Chapatal.*
- Zona 2: 1 colegio (contratada) ⇒ *Verodes*
- Zona 3: 5 colegios (2 directa y 3 contratada) ⇒ *Narciso Brito y Angeles Bermejo (directa) y Rodríguez Galván, 25 de Julio y Ofra Barrio Nuevo (contratada).*
- Zona 6: 8 colegios (2 directa y 6 contratada) ⇒ *Prácticas Aneja y Montaña Pacho (directa) y Las Chumberas, Agüere, Jose de Anchieta, Camino La Villa, Santa Rosa de Lima y San Benito (contratada).*

2. La **zona norte** con un total de 65 colegios, 25 de gestión contratada y 40 de gestión directa, se eligen aleatoriamente 51, 19 contratada y 32 directa repartidos de la siguiente manera:

- Zona 5: 14 colegios (5 directa y 9 contratada) ⇒ *Ayatimas, Lope de Guerra, Teófilo Pérez, Princesa Tejina y Las Mercedes (directa) y San Bartolomé, Lomo Pelado, Melchor Nuñez, Portezuelo, Francisca Santos, Atlántida, Carmen Fdez, Matías Llabres y Camino Largo(contratada).*
- Zona 7: 13 colegios (10 directa y 3 contratada) ⇒ *Acentejo, La Corujera, San Fernando, Agua García, Ernesto Castro Fariña, M^a Rosa Alonso, Príncipe Felipe, Guayonge, Maximiliano Gil y Santo Domingo (directa) y Santa Úrsula, Barranco Las Lajas y Mencey Bencomo(contratada).*

- Zona 8: 12 colegios (9 directa y 3 contratada) ⇒ *Manuel de Falla, Leoncio Estévez, La Luz, San Agustín, Ntra. Sra. de la Concepción, Francisco Afonso, Angel Guimerá, Camino de Chasna y Aguamansa(directa) y Sta. Teresa, Inocencio Sosa y Sto. Tomás de Aquino (contratada).*

- Zona 9: 3 colegios (2 directa y 1 contratada) ⇒ *César Manrique y La Vera (directa) y San Antonio (contratada).*

- Zona 10: 9 colegios (6 directa y 3 contratada) ⇒ *Nicolás Díaz, Antonio del Valle, Julio Delgado, Emeterio Gutierrez, Nicolás Estévez y Aregume (directa) y Campino, Baldomero Bethencourt y Las Salinas (contratada).*

3. La **zona sur** con un total de 45 colegios, 16 de gestión contratada y 29 de gestión directa, elegidos aleatoriamente 34, 12 contratados y 22 directa, se reparten de la siguiente manera:

- Zona 4: 8 colegios (6 directa y 2 contratada) ⇒ *Marina Cebrián, San Luis Gonzaga, San Isidro, Santa Cruz de California, El Draguillo y Tincer (directa) y El Tablero y Secundino Delgado (contratada).*

- Zona 11: 9 colegios (5 directa y 4 contratada) ⇒ *Villa de Arico, Ntra. Sra. de la Luz, Igueste, Guajara y Julián Zafra Moreno (directa) y Andrés Orozco, Alfonso X El Sabio, Hdez Melque y Agache (contratada).*

- Zona 12: 7 colegios (4 directa y 3 contratada) ⇒ *Cabo Blanco, San Miguel, Juan Bethencourt y Granadilla de Abona (directa) y Arona, Valle San Lorenzo y La Camella (contratada).*

- Zona 13: 10 colegios (7 directa y 3 contratada) ⇒ *Tijoco de Abajo, Pérez Valero, La Cumbrita, Almácigo, Teobaldo Power, Tamaimo y Aponte (directa) y Adoración Rodríguez, Playa de Las Américas y Los Cristinos (contratada).*

III.2.1.2. Recogida de muestras de alimentos en los colegios seleccionados

Una vez establecido el número de colegios del estudio se procede a organizar la recogida de alimentos.

La toma de muestra se realiza en envases de boca ancha estériles, con los cubiertos de la propia cocina perfectamente limpios y secos. Se etiqueta la muestra con los datos reseñados y, a continuación, se procede a guardar la muestra en nevera hasta su llegada al laboratorio para su análisis.

El espacio de tiempo transcurrido entre la toma de muestras y el comienzo del análisis en el laboratorio debe ser lo más corto posible, para que en los resultados del análisis se refleje, con la mayor fidelidad, la flora que, cualitativa y cuantitativamente, está presente en el alimento en el momento del muestreo.

Se toman 2 muestras por menú, una correspondiente al primer plato y otra al segundo. En muy pocos casos, se escoge al postre.

Se recogen así un total de 906 muestras.

En las tablas siguientes se esquematizan los diversos menús, de primer (tabla 34) y segundo plato (tabla 35), con los complementos por separado (grupo que engloba aquellos alimentos que acompañan a un plato principal) (tabla 36).

Tabla 34. Alimentos que componen un primer plato.

<i>Cremas de</i>	<i>Potajes de</i>	<i>Purés de</i>	<i>Legumbres</i>	<i>Sopas de</i>
<i>Bubango</i>	<i>Acelgas</i>	<i>Berros</i>	<i>Frijoles</i>	<i>Caldo</i>
<i>Calabaza</i>	<i>Espinacas</i>	<i>Calabacín</i>	<i>Garbanzas</i>	<i>Carne</i>
<i>Puerros</i>	<i>Garbanzos</i>	<i>Calabaza</i>	<i>Guisantes</i>	<i>Fideos</i>
<i>Zanahorias</i>	<i>Judías</i>	<i>Papa</i>	<i>Judías</i>	<i>Marisco</i>
	<i>Lentejas</i>	<i>Zanahorias</i>	<i>Lentejas</i>	<i>Pescado</i>
	<i>Verduras</i>		<i>Rancho</i>	<i>Pollo</i>
	<i>Zanahorias</i>			<i>Verduras</i>
				<i>Verde con huevo</i>

Tabla 35. Alimentos que componen un segundo plato

<i>Arroz</i>	<i>Manipulados</i>	<i>Pescados</i>	<i>Carnes</i>	<i>Pastas</i>
<i>3 delicias</i>	<i>Albóndigas</i>	<i>Atún</i>	<i>Bistec ruso</i>	<i>Fideua</i>
<i>Blanco</i>	<i>Croqueta de atún</i>	<i>Bacalao, en salsa</i>	<i>Carne estofada</i>	<i>Macarrones</i>
<i>Amarillo</i>	<i>Croqueta de bacalao</i>	<i>Calamares, a la romana</i>	<i>Chuleta de cerdo asada</i>	<i>Pizza boloñesa</i>
	<i>Croqueta de jamón</i>	<i>Calamares, en salsa</i>	<i>Gordon blue</i>	<i>Pizza tropical</i>
	<i>Croqueta de merluza</i>	<i>Cherne</i>	<i>Escalope</i>	<i>Raviolis</i>
	<i>Croqueta de pollo</i>	<i>Chocos, en salsa</i>	<i>Filete de ternera</i>	<i>Espaguetis</i>
	<i>Empanadilla</i>	<i>Churros de pescado</i>	<i>Filo en salsa</i>	
	<i>Ensaladilla</i>	<i>Encebollado</i>	<i>Lomo adobado frito</i>	
	<i>Hamburguesa</i>	<i>Merluza rebozada</i>	<i>Pechuga empanada frita</i>	
	<i>Huevo relleno</i>	<i>Palitos de merluza</i>	<i>Pollo al horno</i>	
	<i>Pastel de carne</i>	<i>Pescado a la plancha</i>	<i>Pollo asado</i>	
	<i>Rollitos de primavera</i>	<i>Pescado empanado</i>	<i>Pollo estofado</i>	
	<i>Tortilla española</i>	<i>Pescado a la plancha</i>	<i>Salchichas</i>	
	<i>Tortilla francesa</i>	<i>Pescado guisado</i>	<i>San Jacobo</i>	
		<i>Pulpo a la vinagreta</i>		
		<i>Salpicón de atún</i>		
		<i>Sardinas</i>		

Tabla 36. Alimentos que sirven como complementos de otros platos.

<i>Embutidos</i>	<i>Salsas</i>	<i>Papas</i>	<i>Hortalizas</i>	<i>Huevos</i>
<i>Chopped</i>	<i>Aguacate</i>	<i>Arrugadas</i>	<i>Habichuelas guisadas</i>	<i>Duros</i>
<i>Jamón</i>	<i>Mahonesa</i>	<i>Fritas</i>	<i>Tomate</i>	
<i>Jamón empanado frito</i>	<i>Mojo</i>	<i>Guisadas</i>		
<i>Queso</i>	<i>Tomate</i>	<i>Panaderas</i>		

En el estudio se analizan un total de 906 muestras, 364 de gestión contratada y 542 muestras de gestión directa. A su vez, 432 son alimentos calientes y 110 fríos. La totalidad de las muestras de gestión contratada son con tratamiento culinario (tabla 37).

Tabla 37. Distribución de las muestras según el tipo de gestión

	GESTIÓN		TOTAL
	Directa	Contratada	
✓ Calientes (C)	432 (79,7%)	-	432
✓ Fríos (F)	110 (20,3%)	-	110
✓ Con tratamiento culinario (CTC)	-	364	364
TOTAL	542 (100%)	364 (100%)	906
	(59,8%)	(40,2%)	(100%)

En la tabla 38 se observa la distribución del número de muestras según sean de primer plato, ensaladas, segundo plato, postres y complementos y en la tabla 39 se especifican los distintos tipos de comidas. Para facilitar datos posteriores se engloba en un solo grupo llamado “manipulados” a las croquetas, tortillas y un pequeño grupo llamado “resto” que está formado por albóndigas, empanadillas, hamburguesas, pastel de carne, rollitos de primavera, ensaladillas y huevos rellenos que al estar en un número muy escaso no se separan.

Tabla 38. Distribución de las muestras ensayadas según el tipo de plato.

Muestras	Calientes (C)	Frías (F)	Con tratamiento culinario (CTC)	TOTAL
1^{er} Plato	189	---	128	317
Ensaladas	---	58	33	91
2^o Plato	206	11	154	371
Complementos	37	34	48	119
Postres	---	7	1	8
TOTAL	432	110	364	906

Tabla 39. Distribución de los tipos de comidas según los platos.

PLATOS		MUESTRAS
1 ^{er} Plato	Cremas	25
	Legumbres	62
	Potajes	102
	Purés	54
	Sopas	74
	SUBTOTAL	
2 ^o Plato	Arroz	46
	Carnes	112
	Manipulados Croquetas	21
	Tortillas	33
	Resto	31
	Pastas	41
	Pescados	87
	SUBTOTAL	
Complementos	Hortalizas guisadas	5
	Hortalizas crudas	9
	Huevos	8
	Jamón	11
	Mojos	17
	Papas	39
	Queso	5
	Salsas	25
	SUBTOTAL	
Ensaladas	Mixtas	91
Postres		8
TOTAL		906

III.2.2. PREPARACION DE LAS MUESTRAS PARA SU ANÁLISIS

El procesado de la muestra en el laboratorio se hace bajo las más cuidadas condiciones de asepsia para evitar posibles contaminaciones externas.

La fracción del alimento destinada al análisis microbiológico ha de ser representativa de la totalidad de la muestra (10g, y para la detección de *Salmonella* 25g) y si el alimento está integrado por distintos componentes, se toman fracciones representativas de cada uno de ellos en superficie y profundidad.

La toma de fracción de muestra a analizar se hace en condiciones asépticas muy estrictas y con material estéril (con bisturis estériles y cubiertos estériles).

Se abren los recipientes en condiciones asépticas y se pasa a la pesada de la muestra en balanza. Se tara la bolsa estéril que se utiliza para la trituración, luego se introduce en ella con los instrumentos estériles adecuados un volumen determinado de muestra (indicado anteriormente) en las condiciones de asepsia exigidas y, a continuación, se procede al homogeneizado de la muestra, utilizando como diluyente el Caldo Triptona Soja (TSB, CM 129 OXOID) y, salvo en el caso del pollo o derivados del huevo, que se utiliza el agua de Peptona (PW, CM 509 OXOID).

Se pesan 10 gramos de muestra lo que nos lleva a utilizar 90ml de diluyente para que la *suspensión madre* tenga un título de 1:10. En el caso de 25 gramos de muestra, el diluyente tiene un volumen de 225ml para tener el mismo título, 1:10. Un buen diluyente es aquel que no produzca modificaciones cualitativas ni cuantitativas en la flora de los alimentos que van a ser analizados, es decir, debe mantener lo más fielmente posible la flora de la muestra, sin suprimirla ni favorecer su desarrollo.

Los métodos utilizados para el aislamiento y recuento de microorganismos presentes en los alimentos no líquidos requieren un tratamiento previo de la muestra para liberar en un medio fluido aquellos microorganismos que puedan estar en el interior del alimento. El procedimiento empleado es el uso del “*Stomacher*” (Triturador de Paletas), donde se coloca la muestra y el diluyente en una bolsa estéril adecuada para el aparato y se procede a ponerlo en marcha durante un tiempo determinado; dos paletas situadas en la parte interior del aparato golpean rítmicamente la mezcla de alimento. Los choques producidos por las paletas deshacen el alimento y dejan las bacterias en suspensión.

III.2.2.1. Preparación de las diluciones decimales

La preparación de diluciones decimales a partir de una muestra tiene por objeto efectuar diluciones progresivas de dicha muestra para poder realizar recuentos microbianos a las distintas concentraciones.

Los diluyentes utilizados fueron los siguientes:

Caldo triptono-soja (Tryptone Soya Broth, TSB, CM 129 OXOID)

Composición:

Triptona.....	17,00g
Soja.....	3,00g
Dextrosa.....	2,50g
Cloruro sódico.....	5,00g
Fosfato dipotásico.....	2,50g
Agua destilada.....	1000ml

Disolver por calentamiento la cantidad deseada en agua destilada y ajustar el pH a 7,3. Distribuir en botellas a razón de 90ml. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Solución de Ringer (Ringer Solution, RS, BR 52 OXOID)

Composición :

Cloruro sódico.....	2,250g
Cloruro potásico.....	0,105g
Cloruro cálcico.....	0,120g
Carbonato sódico.....	0,050g
Agua destilada.....	1000ml

Disolver y ajustar el pH a 7. Distribuir en tubos de ensayo de 16x160ml a razón de 9ml. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Agua de Peptona Tamponada (Buffer Peptone Water, BPW, CM 509 OXOID)

Composición :

Peptona.....	10,00g
Cloruro sódico.....	5,00g

Fosfato disódico.....	9,00g
Fosfato potásico.....	1,50g
Agua destilada.....	1000ml

Disolver por calentamiento y ajustar el pH a $7\pm 0,1$. Distribuir en botellas de 500ml a razón de 225ml. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Técnica de las diluciones decimales:

De la suspensión madre 1:10 se transfiere 1ml a un tubo que contenga 9ml de diluyente, se agita vigorosamente 25 veces en 30cm en 7 segundos la dilución para obtener así la dilución 1:100. Con una nueva pipeta estéril se transfiere 1ml a otro tubo que contenga 9ml de diluyente, mezclamos y agitamos como la anterior y obtenemos la dilución 1:1000. Así continuamos hasta las diluciones deseadas obteniendo concentraciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ... y no debe transcurrir más de 15 minutos desde que la muestra es unida hasta que todas las diluciones están en la medida apropiada.

III.2.3.TECNICAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Las técnicas microbiológicas de alimentos nos permiten investigar tanto la presencia de microorganismos patógenos que representan un riesgo para la salud del consumidor como la de aquellos que producen alteraciones en el alimento durante el período de conservación.

Las técnicas descritas a continuación son las recomendadas por el Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (CENAN) y las recogidas en:

- **Orden de 21 de febrero de 1977 sobre Normas higiénico-sanitarias para la instalación y funcionamiento de industrias dedicadas a la preparación y distribución de comidas para consumo en colectividades y medios de transporte. (BOE nº59, 10 de marzo de 1977). Corrección de errores en los BOE de 14 y 27 de mayo de 1977.**
- **RD 2817/1983, de 13 de octubre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria de los Comedores Colectivos. (BOE**

del 11-11-83). Correcciones en el RD 1333/1984, de 6 de junio (BOE nº 167, de 13 de julio de 1984).

Los resultados de los análisis de los alimentos muestreados son sometidos a estas dos reglamentaciones dependiendo si son de elaboración propia o elaboración en cocina central, en este caso responsable en la gran mayoría el catering A con un 79,4% frente al catering B con un 20,6%.

Los límites para los distintos parámetros son diferentes, estableciendo varias categorías:

- Alimentos preparados en la cocina del colegio:
 1. Comidas servidas en frío
 2. Comidas servidas en caliente

- Alimentos preparados en el catering:
 1. Con tratamiento culinario
 2. Sin tratamiento culinario

Los parámetros a estudiar son los siguientes:

- ➔ Recuento total de microorganismos *Aerobios Mesófilos*
- ➔ Recuento de *Enterobacteriaceae* totales
- ➔ Recuento de *Enterobacteriaceae lactosa positiva*
- ➔ Identificación de *Escherichia coli*
- ➔ Investigación del género *Salmonella*
- ➔ Recuento de *Staphylococcus aureus*
- ➔ Recuento de *Clostridium sulfito reductores*
- ➔ Recuento de *Enterococcus spp.*

III.2.3.1. Recuento total de Microorganismos Aerobios Mesófilos

En este recuento se estima la flora total, pero sin especificar los tipos de microorganismos. Refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, así como la condiciones de manipulación durante su elaboración.

Un alto recuento nos puede indicar:

- a) una materia prima muy contaminada
- b) una mala manipulación durante la elaboración

Hay que tener en cuenta que pueden haber microorganismos patógenos ya que estos suelen ser mesófilos. Además indicar que recuentos superiores a 10^6 - 10^7 microorganismos por gramo suele ser indicio de descomposición del producto.

III.2.3.1.1. Método

El empleado es el Recuento en Placa de Agar, por siembra en masa.

III.2.3.1.2. Medio de cultivo

Agar nutritivo de recuento (Plate Count Agar, PCA, CM 325 OXOID)

Composición :

Triptona.....	5,00g
Extracto de levadura.....	2,50g
Dextrosa.....	1,00g
Agar.....	12,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve los ingredientes por calentamiento y se ajusta el pH a 7. Se distribuye en tubos de 18x180mm a razón de 20ml cada tubo y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

III.2.3.1.3. Técnica

A partir de las diluciones decimales, se deposita 1ml de cada una de ellas en una placa de Petri estéril de 90mm de diámetro y rotulada. A continuación, se vierte en condiciones asépticas el contenido del tubo con el medio fundido y atemperado a 47°C. No se debe de sobrepasar los 10 minutos desde que se pone la dilución en placa hasta que se vierte el medio. Se procede a mover la placa, situada sobre una

superficie plana horizontal, en sentido y en contra de las agujas del reloj evitando cualquier contacto con la tapa de la placa y se deja solidificar la placa perfectamente para luego invertirla e introducirla en la estufa a $31\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante un período de 72 horas.

III.2.3.1.4. Resultado

Transcurrido este tiempo de incubación se cuentan las colonias en aquellas placas que muestren entre 30 y 300 colonias aisladas. El número total de colonias contadas, multiplicado por el factor de dilución de la placa da como resultado el recuento total de microorganismos por gramo o mililitro del alimento analizado.

III.2.3.2. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales

Son microorganismos de forma bacilar, gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados, móviles o inmóviles, que fermentan la glucosa, reducen nitratos a nitritos, son citocromo-oxidasa negativos y crecen en medios que contienen sales biliares. Hay integrantes de esta familia que fermentan la lactosa y otros no.

<u>No fermentadores de la lactosa</u>	<u>Fermentadores de la lactosa</u>
<i>Salmonella</i>	<i>Escherichia</i>
<i>Shigella</i>	<i>Enterobacter</i>
<i>Edwardsiella</i>	<i>Citrobacter</i>
<i>Hafnia</i>	<i>Serratia</i>
<i>Proteus</i>	<i>Klebsiella</i>
<i>Providencia</i>	
<i>Yersinia</i>	
<i>Morganella</i>	
<i>Erwinia</i>	

Su presencia a niveles altos en productos indica elaboración poco higiénica y/o contaminación posterior a su fabricación.

Son indicadores de contaminación fecal aunque existen en esta familia patógenos, como es el caso del género *Salmonella*.

III.2.3.2.1. Método

Investigación y recuento de *Enterobacteriaceae* totales en medio sólido.

III.2.3.2.2. Medio de cultivo

Agar biliado rojo violeta glucosa (Violet Red Bile Glucose, VRBG, CM 485 OXOID)

Composición :

Extracto de levadura en polvo.....	3,00g
Peptona.....	7,00g
Cloruro sódico.....	5,00g
Sales biliares.....	1,50g
Glucosa.....	10,00g
Rojo neutro.....	0,03g
Cristal violeta.....	0,002g
Agar.....	12,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento hasta ebullición y se ajusta el pH a 7,3. No se esteriliza en autoclave. Se reparte en tubos, a razón de 20ml por tubo, y se almacena el medio en la oscuridad no más de 2 semanas antes de su uso (FDA-BAM).

III.2.3.2.3. Técnica

A partir de las diluciones decimales se deposita 1ml en una placa de Petri estéril rotulada. Se vierten seguidamente 15ml del medio atemperado a 45-47°C. Se mezclan cuidadosamente y dejan solidificar sobre una superficie horizontal. Una vez solidificado se vierte los 5ml restantes y se deja de nuevo que se solidifique. Luego se incuba las placas invertidas a 37°C durante 24 horas.

III.2.3.2.4. Resultado

Todas las *Enterobacteriaceae* fermentan la glucosa con producción de ácido, lo que se pone de manifiesto por un viraje al rojo y la precipitación de las sales biliares alrededor de las colonias. Hay que tener en cuenta que esta misma reacción la dan en este medio las *Aeromonas*.

Las colonias de color rojo violeta rodeadas de un halo de precipitación, también violeta, se consideran *Enterobacteriaceae*. Se cuentan las colonias en aquellas placas que muestren entre 30 y 300 colonias aisladas. El número total de colonias contadas, multiplicado por el factor de dilución de la placa da como resultado el recuento total de enterobacterias por gramo o mililitro del alimento analizado.

III.2.3.3. Recuento de *Enterobacteriaceae* lactosa positiva (Coliformes)

Las *Enterobacteriaceae* lactosa-positivas o grupo *coli-aerogenes* constituyen un grupo de bacterias que se definen más por las pruebas usadas para su aislamiento que por criterios taxonómicos. Se caracterizan por su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, más o menos rápidamente, en un período de 48 horas y con una temperatura de incubación comprendida entre 30-37°C.

Son bacilos gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados. Varios géneros forman parte como los siguientes:

- *Escherichia*
- *Enterobacter*
- *Klebsiella*
- *Citrobacter*

Se encuentran en el intestino del hombre y de los animales, pero también en otros ambientes como el suelo, plantas, etc. Su frecuencia en heces los hace utilizar como indicadores fecales, así dentro de los coliformes fecales cabe destacar a *Escherichia coli*.

En general, niveles altos de *Enterobacteriaceae* lactosa-positivas (coliformes) indican manipulación y elaboración deficientes de los alimentos.

III.2.3.3.1. Método

Investigación y recuento en medio líquido.

III.2.3.3.2. Medio de cultivo

Caldo lactosado biliado verde brillante (Brilliant Green Bile Lactose, BGBL, CM 31 OXOID)

Composición :

Peptona.....	10,00g
Lactosa.....	10,00g
Bilis de buey.....	20,00g
Verde brillante.....	0,0133g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve y se ajusta el pH a 7,4. Se distribuye en tubos de ensayo con campana Durham a razón de 10ml y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

III.2.3.3.3. Técnica

Se preparan en una gradilla tres series de tres tubos cada una, cada tubo contiene 10ml del medio. A cada uno de los tubos de la primera serie, se vierte 1ml de la dilución de la muestra al 1:10. En cada uno de los tubos de la segunda serie como en los de la tercera serie se vierten 1ml de la dilución de la muestra al 1:100 y al 1:1000 respectivamente. Se incuban los tubos a 31±1°C haciendo lecturas a 24 y 48 horas.

III.2.3.3.4. Resultado

El resultado es positivo cuando se produce desprendimiento de gas en la campana Durham, como consecuencia de la fermentación de la lactosa con formación de ácido y gas en presencia de sales biliares a una temperatura comprendida entre 30-37°C.

Con el número de tubos positivos en cada serie, se recurre a la *Tabla del Número Más Probable (NMP)* donde se obtiene el recuento por gramo o mililitro de muestra (tabla 40).

Tabla 40. Tabla del Número Más Probable (NMP) por gramo o mililitro utilizando tres series de tres tubos cada una, conteniendo 10ml de medio líquido y sembrando 1ml de la dilución 1:10, 1ml de la dilución 1:100 y 1ml de la dilución 1:1000

Tres tubos 1ml 1:10	Tres tubos 1ml 1:100	Tres tubos 1ml 1:1000	NMP de microorganismos g o ml
0	0	0	<3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	480
3	3	2	1100
3	3	3	>2400

III.2.3.4. Identificación de *Escherichia coli*

Escherichia coli como huésped constante del intestino del hombre y animales de sangre caliente se le considera como un buen índice de contaminación fecal, pero al vivir poco tiempo fuera de este hábitat su presencia en alimentos indica contaminación reciente. Se destruye a temperatura de pasteurización y también

durante su almacenamiento en frío.

Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y así es un germen bacilar, casi siempre móvil, gramnegativo y se ajusta a las siguientes reacciones como muestra la tabla 41.

Tabla 41. Reacciones de la familia *Enterobacteriaceae*.

Prueba	Reacción
Movilidad	+
Indol	+
Rojo de metilo	+
Voges Proskauer	-
Betagalactosidasa	+
Citrato de Simmons	-
SH ₂	-
Lisina	+
Urea	-
Fermentación de la glucosa	+
Fermentación de la lactosa	+

III.2.3.4.1. Método

Investigación y recuento en medio líquido.

III.2.3.4.2. Medio de cultivo

Caldo lactosado biliado verde brillante (Brilliant Green Bile Lactose, BGBL, CM 31 OXOID)

Ver método de *Enterobacteriaceae* lactosa positiva(coliformes)

Caldo EC (Escherichia Coli, EC, 44653 FLUKA)

Composición :

Triptona.....	20,00g
Sales biliares.....	1,50g
Lactosa.....	5,00g
Fosfato dipotásico.....	4,00g
Fosfato potásico.....	1,50g
Cloruro sódico.....	5,00g
Agua destilada.....	1000ml

Material y métodos

Se disuelve por calentamiento y se ajusta el pH a $6,9 \pm 0,2$. Se distribuye en tubos de ensayo con campana Durham a razón de 10ml y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Agar Levine (CM 69 OXOID)

Composición :

Peptona.....	10,00g
Lactosa.....	10,00g
Fosfato dipotásico.....	2,00g
Eosina.....	0,40g
Azul de metileno.....	0,065g
Agar.....	15,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento y se ajusta el pH a 7,1. Se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Se prepara placas de Petri una vez atemperado el medio.

Caldo urea (CM 71+SR 20 OXOID)

Composición :

Urea.....	20,00g
Extracto de levadura.....	0,10g
Fosfato potásico.....	0,09g
Fosfato disódico.....	0,095g
Rojo fenol.....	0,01g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve los ingredientes sin calentamiento y se ajusta el pH a $6,8 \pm 0,2$. Se distribuye en tubos estériles de 13x100mm a razón de 3ml.

Agua de triptona (Tryptone Water, TW, CM 87 OXOID)

Composición :

Triptona.....	10,00g
Cloruro sódico.....	5,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve los ingredientes y se ajusta el pH a 7,2. Se distribuye en tubos de ensayo de 13x100mm a razón de 3ml y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Reactivo de Kovacs

Composición :

Paradimetil-amino- benzaldehído.....	5,00g
Alcohol amílico.....	75ml
Acido clorhídrico puro.....	25ml

Se disuelve el aldehído en el alcohol, calentando a 60°C en baño María. Se deja enfriar y se añade gota a gota el ácido. Se obtiene un líquido de color amarillo dorado que debe conservarse en frasco topacio, al abrigo de la luz y en el frigorífico. Si se deja a la temperatura del ambiente durante un tiempo, cambiará el color (amarillo a castaño) y se hará menos sensible.

Manitol (Mannitol 10 %, SR 14 OXOID)

Solución esterilizada por filtración, disponible en ampollas de 5ml, en cajas de 10. Partiendo con una cantidad de 450ml de agua de triptona, se le añade 4 gotas del indicador púrpura de bromocresol al 1,6 % en alcohol absoluto y 10 ampollas de la solución de Manitol al 10%. Se agita y se reparte en tubos de ensayo de 13x100mm que contendrán campanas a razón de 3ml. Se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Kliger (Kliger Iron Agar, KIA, CM 33 OXOID)

Composición :

Polvo 'Lab-Lemco'.....	3,00g
Extracto de levadura.....	3,00g
Peptona.....	20,00g
Cloruro sódico.....	5,00g
Lactosa.....	10,00g
Glucosa.....	1,00g

Material y métodos

Citrato férrico.....	0,30g
Hiposulfito sódico.....	0,30g
Rojo fenol.....	0,05g
Agar	12,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento y agitación hasta ebullición. Se ajusta el pH a $7,4\pm 0,2$. Se distribuye en tubos de 13x100 mm a razón de 4ml y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Se deja solidificar el medio en posición inclinada para obtener 2,5 cm de pendiente y 4 cm de fondo.

Caldo lisina-decarboxilasa (CM 398 OXOID)

Composición :

Peptona.....	5,00g
Extracto de levadura.....	3,00g
Glucosa.....	1,00g
L-Lisina.....	5,00g
Púrpura de bromocresol.....	0,02g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento y se ajusta el pH a $6,7\pm 0,2$. Se distribuye en tubos de 10x100mm a razón de 3ml por tubo y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Agar citrato de Simmons (CM 155 OXOID)

Composición :

Sulfato magnésico.....	0,20g
Dihidrógeno fosfato amónico.....	0,20g
Fosfato sódico amónico.....	0,80g
Citrato sódico.....	2,00g
Cloruro sódico.....	5,00g
Azul de bromotimol.....	0,08g
Agar	15,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento y agitación hasta ebullición. Se ajusta el pH a 7. Se distribuye en tubos de 13x100 mm a razón de 4ml y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Se deja solidificar el medio en posición inclinada para obtener 4 cm de pendiente y 1 cm de fondo.

III.2.3.4.3. Técnica

Se parte de los tubos positivos (con gas en la campana Durham) después del período de incubación detectados en la identificación de *Enterobacteriaceae* lactosa positivas. Estos se agitan suavemente y con asa de cultivo se siembran sobre tubos que contienen el medio EC con campana, tantos tubos de EC como tubos positivos haya. Se incuban durante 48 horas a $44,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Después de 24 horas de incubación se examinan para ver si hay producción de gas y en caso negativo se mantienen hasta las 48 horas para hacer la lectura definitiva. La temperatura de incubación es selectiva para *Escherichia coli*, se presume que todo tubo que contenga gas después de la incubación es *E. coli*.

Para la confirmación, de los tubos con gas en caldo EC se siembra con asa de cultivo sobre agar Levine para obtener colonias aisladas. Las placas se incuban 24 horas a 37°C .

De las colonias crecidas sobre agar Levine sin brillo metálico se realiza una batería bioquímica para su identificación.

Se realizan las siguientes pruebas:

1. urea : se siembra abundantemente con asa y se incuba el tubo a 37°C de 18-24 horas.
2. indol : se siembra una colonia en un tubo que contiene agua de triptona y se incuba a 37°C de 18-24 horas. Pasado este tiempo se incorporan unas gotas del reactivo de Kovacs al tubo.
3. manitol : se siembra una colonia y se incuba a 37°C de 18-24 horas.
4. klinger : se siembra por picadura en el fondo del tubo y por diseminación en la superficie del tubo. Se incuba a 37°C durante 24 horas.
5. lisina : se siembra y se incuba a 37°C de 18-24 horas.
6. citrato : se siembra por diseminación en la superficie inclinada del medio.

III.2.3.4.4. Resultado

Las colonias de *E. coli* sobre agar Levine miden 2-3mm de diámetro, son planas o ligeramente cóncavas, con centros oscuros, casi negros, que ocupan las $\frac{3}{4}$ partes de la colonia; con luz reflejada se observa un brillo metálico verdoso a la colonia.

En la **prueba de la urea** se determina la capacidad de un organismo de desdoblar la urea, formando dos moléculas de amoníaco por acción de la enzima ureasa. Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de *Proteus* y se usa sobre todo para diferenciar los organismos *Proteus* rápidamente ureasa positivos de otros miembros de las *Enterobacteriaceae*.

En el caldo de urea una reacción positiva da color rojo rosado intenso en todo el caldo debido al cambio de pH que se pone de manifiesto por el indicador rojo de fenol y cuando no se produce cambio de color (amarillo anaranjado) la reacción es negativa.

Con **la prueba del indol** se intenta determinar la capacidad de un organismo de desdoblar el indol de la molécula de triptófano.

El triptófano es un aminoácido que puede ser oxidado por ciertas bacterias para formar tres metabolitos indólicos principales: indol, escatol e indolacético. El indol desdoblado puede ser detectado por un reactivo que posea una combinación química que produzca un color definido. Cuando existe indol, éste se combina con el aldehído que se encuentra en el reactivo de Kovacs para dar un color rojo en la capa de alcohol. Una prueba negativa no daría color en la capa alcohólica, toma el color del reactivo de Kovacs (amarillo).

En otros casos se determina la capacidad de un organismo de fermentar un hidrato de carbono específico como es el **manitol**, incorporado a un medio básico, produciendo ácido o ácido más gas visible.

Se produce pirúvico que acidifica el medio y este cambio de pH se detecta por el indicador, púrpura de bromocresol. Una reacción positiva da un pH ácido y así un color amarillo, mientras que en la reacción negativa el pH es neutro y no hay cambio de color (violeta).

El medio **kliger** lleva incorporado dos azúcares: glucosa y lactosa. También contiene sulfato ferroso, que sirve de indicador de SH_2 cuando al reducirse se transforma en sulfuro de color negro.

En el fondo del tubo se refleja la fermentación de la glucosa, al virar el medio a amarillo por acidificación. Esta fermentación puede ir acompañada de desprendimiento de gas, separándose el medio del tubo.

En la zona inclinada del medio se refleja la fermentación de la lactosa, al virar el medio a amarillo por acidificación. La fermentación se produce aeróbicamente en el pico de flauta y anaeróbicamente en la capa inferior del cultivo.

Las reacciones en este medio se utilizan primariamente para la identificación de miembros de las *Enterobacteriaceae* que son bacilos gramnegativos catalasa positivos, todos los cuales fermentan el hidrato de carbono glucosa en ácido, aunque existen muchos bacilos gramnegativos no entéricos para cuya identificación ayudan estas reacciones.

Se han observado tres formas básicas de fermentación en el medio Kliger:

1. fermentación de la glucosa solamente
2. fermentación tanto de la glucosa como de la lactosa
3. no fermentación de la glucosa ni de la lactosa

Así sería:

- fermentación de la glucosa: fondo amarillo
- no fermentación de la glucosa: fondo sin cambio (rojo grosella)
- fermentación de la lactosa: superficie inclinada amarilla.
- no fermentación de la lactosa: superficie inclinada alcalina (rojo grosella)
- gas: burbujas en la masa del medio, entre el medio y el tubo y, a veces, rotura del medio.
- producción de SH_2 : ennegrecimiento en la zona que separa el fondo de la pendiente o en toda la parte inferior del tubo.

Es esencial que se interprete la fermentación de los hidratos de carbono en todos los tubos con kliger al término de 18 a 24 horas de incubación.

Con la **prueba de la lisina** medimos la capacidad enzimática de un organismo para decarboxilar un aminoácido formando una amina con la consiguiente alcalinidad.

Lo primero que ocurre es una fermentación de la glucosa, produciendo una acidificación del medio. En estas condiciones actuará la lisina-decarboxilasa dando como producto de la decarboxilación la cadaverina (diamida), que neutralizará el pH del medio. Así una reacción positiva dará un color púrpura turbio producido por la cadaverina, pH alcalino del indicador púrpura de bromocresol. Y una reacción negativa da un color amarillo claro y brillante donde sólo se ha fermentado la glucosa.

En la **prueba del citrato** se trata de determinar si el organismo es capaz de utilizar el citrato sódico como única fuente de carbono para su metabolismo, provocando alcalinidad. La utilización de ácidos orgánicos y sus sales como fuente de carbono produce carbonatos y bicarbonatos alcalinos en la nueva degradación, estos productos nos viran el color del indicador (azul de bromotimol).

Una reacción positiva sería con un crecimiento de color azul en el pico de flauta y en la reacción negativa no se observa crecimiento ni cambio de color permaneciendo el color verde.

De acuerdo a los resultados obtenidos en cuanto a la formación de gas en el caldo verde brillante y en el caldo EC, y el crecimiento característico en agar Levine junto a la producción de indol, la detección de lisina-decarboxilasa, la fermentación de la glucosa y la lactosa en el medio Kligler, se hace la lectura en la Tabla del Número Más Probable para calcular la cifra de *E. coli* por gramo o mililitro.

III.2.3.5. Investigación del género *Salmonella*

Todos los miembros de este género son potencialmente patógenos para el hombre y los animales vertebrados. La salmonelosis es una enfermedad originada por miembros del género *Salmonella*, su transmisión es a partir de la ingestión de alimentos de origen animal contaminados al hombre.

Salmonella es un género bacteriano, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, integrado por microorganismos de forma bacilar, no esporulados, habitualmente móviles mediante flagelos peritricos, aunque existen mutantes inmóviles.

Gramnegativos, aerobios-anaerobios facultativos, fermentan la glucosa con producción de gas. No fermentan la lactosa. Reducen nitratos a nitritos. Son citocromo-oxidasas negativas.

III.2.3.5.1. Método

El aislamiento de *Salmonella* a partir de alimentos requiere una metodología distinta a la utilizada en otras identificaciones ya que este género se desarrolla en hábitats diferentes al suyo habitual, el tracto intestinal del hombre y animales.

Los métodos utilizados para el aislamiento de *Salmonella* van encaminados a aumentar su supervivencia, favorecer su multiplicación y suprimir el crecimiento de la flora competitiva. Es necesario tener en cuenta ciertos aspectos:

- Utilizar altos inóculos, no inferiores a 25 gramos de muestra.
- Neutralización de los productos ácidos para que el producto no alcance un pH inferior a 6, valor que perjudicaría el desarrollo de estas bacterias.
- Utilizar medios líquidos de enriquecimiento selectivos que inhiban el crecimiento de la flora competitiva, siendo en algunos casos aconsejable una fase de preenriquecimiento.

III.2.3.5.2. Medios de cultivo

Agua de Peptona Tamponada (Buffer Peptone Water, BPW, CM 509 OXOID)

Composición :

Peptona.....	10,00g
Cloruro sódico.....	5,00g
Fosfato disódico.....	9,00g
Fosfato potásico.....	1,50g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento y se ajusta el pH a $7\pm 0,1$. Se distribuye en botellas de 500ml a razón de 225ml y se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Material y métodos

Caldo Rappaport-Vassiliadis-peptona de soja (RVS, CM 669 OXOID)

Composición :

Soja peptona.....	5,00g
Cloruro sódico.....	8,00g
Fosfato dihidrogenado de potasio.....	1,60g
Cloruro magnésico·6H ₂ O.....	40,00g
Verde de malaquita.....	0,04g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento y se ajusta el pH a 5,2±0,2. Se distribuye en tubos a razón de 10ml y se esteriliza en autoclave a 115°C durante 15 minutos.

Agar xilosa-lisina-desoxicolato (Xylose Lysine Desoxycholate, XLD, CM 469 OXOID)

Composición :

Extracto de levadura.....	3,00g
Xilosa.....	3,75g
L-Lisina.....	5,00g
Desoxicolato sódico.....	2,50g
Lactosa.....	7,50g
Sacarosa.....	7,50g
Cloruro sódico.....	5,00g
Tiosulfato sódico.....	6,80g
Citrato férrico amónico.....	0,80g
Rojo fenol.....	0,08g
Agar	15,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento y agitación hasta ebullición. Se ajusta el pH a 7,4±0,2. No se esteriliza en autoclave. Se prepara placas de Petri.

Agar Salmonella-Shigella (SS, CM 99 OXOID)

Composición :

Polvo 'Lab-Lemco'	5,00g
Peptona.....	5,00g
Lactosa.....	10,00g
Sales biliares.....	8,50g
Citrato sódico.....	10,00g
Hiposulfito sódico.....	8,50g
Citrato férrico.....	1,00g
Verde brillante.....	0,00033g
Rojo neutro.....	0,025g
Agar	15,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento y agitación hasta ebullición. Se ajusta el pH a 7,0±0,2.

No se esteriliza en autoclave. Se prepara placas de Petri.

Kliger (Kliger Iron Agar, KIA, CM 33 OXOID)

Ver en la identificación de *Escherichia coli*.

Caldo urea (CM 71+SR 20 OXOID)

Ver en la identificación de *Escherichia coli*.

Agua de triptona (Tryptone Water, TW, CM 87 OXOID)

Ver en la identificación de *Escherichia coli*.

Reactivo de Kovacs

Ver en la identificación de *Escherichia coli*.

Caldo lisina-decarboxilasa (CM 398 OXOID)

Ver en la identificación de *Escherichia coli*.

III.2.3.5.3. Técnica

Dentro de la sistemática analítica se utilizan varias etapas:

1. Preenriquecimiento en medio líquido no selectivo.

Se logra la revivificación de las salmonelas lesionadas, se incrementan su vitalidad y se adquieren las condiciones fisiológicas adecuadas para su perfecto desarrollo.

El medio de elección es el agua de peptona tamponada que, al mantener un pH constante, favorece el desarrollo de las salmonelas. Por otra parte, la peptona y los fosfatos revitalizan al microorganismo.

Técnica (1): Se pesa, asépticamente y en envase estéril, 25 g. del producto por analizar. Se añade 225ml de agua de peptona tamponada para obtener una solución al 1: 10. Se mezcla bien y se incuba a 37 °C durante 16-20 horas.

2. Enriquecimiento en medios líquidos selectivos.

Se estimula y favorece el crecimiento de las salmonelas y se restringe la proliferación de la flora competitiva.

Técnica (2): Se agita el cultivo de preenriquecimiento y se siembra, con pipeta estéril, en el siguiente medio líquido selectivo:

→ 0'1ml de cultivo sobre 10ml de caldo de Rappaport-Vassiliadis peptona de soja (RVS) incubando a $42^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ durante 18-24 horas.

En este medio selectivo el verde de malaquita inhibe el crecimiento de la flora competitiva, pero no el de las salmonelas. Los fosfatos monopotásico y dipotásico mantienen inalterable el valor del pH durante el almacenamiento del medio. La concentración de cloruro magnésico es óptima para lograr un buen enriquecimiento del caldo y favorecer el desarrollo de las salmonelas.

3. Aislamiento diferencial sobre medios sólidos.

Se restringe, aun más el crecimiento de la flora competitiva y se estimula el de las salmonelas. Por otra parte, la composición de los distintos medios permite el crecimiento de colonias con aspecto característico en cada uno de ellos. A partir de los cultivos obtenidos en el medio líquido selectivo, se siembra, por duplicado y sin recargar el asa en la segunda placa, sobre XLD y SS. Se incuba en estufa a 37 °C todas las placas sembradas, durante 24-48 horas.

Las colonias de *Salmonella* crecidas sobre agar XLD son rojas con centros negros debido a un cambio en el pH por fermentación de la xilosa y decarboxilación de la lisina. Los centros negros se deben a la producción del SH_2 . A veces no se forman centros negros, por el contrario, las colonias son negras casi por completo.

Las colonias de *Salmonella* crecidas sobre agar SS son incoloras.

Se aísla, como mínimo, dos colonias con aspecto típico de *Salmonella* de cada uno de los medios de aislamientos selectivo utilizados.

Se siembra cada colonia en agar kligler con asa de cultivo, primero en el fondo por picadura y luego en la superficie inclinada por diseminación. Se incuban los tubos a 37 °C durante 24 horas.

Las salmonelas dan la siguiente reacción sobre kligler:

- ⇒ alcalina (rojo) en la superficie inclinada.
- ⇒ ácida (amarilla) en el fondo.
- ⇒ con producción de SH_2 (ennegrecimiento del medio).

4. Confirmación bioquímica de las colonias sospechosas.

Se siembran las colonias sospechosas sobre agar nutritivo contenido en placas de Petri. Se incuban a 37 °C durante 18-24 horas. Se comprueba la pureza del cultivo, que servirá para efectuar las pruebas confirmativas bioquímicas y serológicas.

- Prueba de la ureasa

A partir del cultivo reciente sobre agar nutritivo, se siembra, abundantemente con asa, en tubos que contengan caldo urea. Se incuban los tubos sembrados en “baño María” a 37 °C durante 2 horas. Los microorganismos que poseen ureasa crecen en el medio y hacen virar el indicador a rojo.

Las salmonelas no crecen en este medio, por carecer de ureasa y no utilizar la urea como fuente de carbono.

- Prueba de la lisina-decarboxilasa

Se siembra a partir de un cultivo reciente en el caldo, se incuban a 37°C durante 48 horas, haciendo una lectura a las 24 horas.

Las salmonelas dan reacción alcalina en este medio que se manifiesta por la aparición de un color rojo púrpura, mientras que la reacción es negativa cuando se muestra el color amarillo.

- Prueba del indol

Se siembra a partir de un cultivo reciente en tubos que contengan agua de triptona y se incuba a 37°C durante 24 horas. Pasado este tiempo se añade unas gotas del reactivo de Kovacs. La reacción es positiva si aparece un anillo rojo en la superficie.

La mayoría de las salmonelas no producen indol.

5. Confirmación serológica de las colonias sospechosas.

Las cepas que bioquímicamente, presentan los caracteres generales de *Salmonella spp.* se estudian serológicamente con la ayuda de sueros aglutinantes polivalentes anti O y anti H.

III.2.3.6. Recuento de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es una especie bacteriana integrada por formas cocáceas que se agrupan irregularmente en racimos. Son inmóviles y carecen de esporos. Son grampositivas. Tiene cepas enterotoxigénicas que producen toxinas que pueden causar una grave intoxicación alimentaria en aquellos alimentos en los que este presente. Estas enterotoxinas son termorresistentes y por esto es útil una determinación de la posible presencia de desoxirribonucleasa termoestable.

La presencia de *Staphylococcus aureus* en un alimento se interpreta, por lo general, como indicativo de contaminación a partir de la piel, la boca y las fosas nasales de los manipuladores de alimentos, si bien el material y equipo sucios y las materias primas de origen animal pueden ser asimismo la fuente de la contaminación.

Es una especie muy sensible al calor y a los desinfectantes, por lo que, su presencia en los alimentos es indicativo de una mala higiene.

III.2.3.6.1. Método

Recuento en placas en el medio agar Baird-Parker.

III.2.3.6.2. Medio de cultivo

Medio Baird Parker (BP, CM 275 + SR 54 OXOID)

Composición:

Triptona.....	10,00g
Extracto de carne.....	5,00g
Extracto de levadura.....	1,00g
Piruvato sódico.....	10,00g
Glicina.....	12,00g
Cloruro de litio.....	5,00g
Agar.....	20,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento y se ajusta el pH a $6,9 \pm 0,2$. Se esteriliza en autoclave a 121° durante 20 minutos. Se enfría a 50°C y se añade 50ml de emulsión estéril de yema de huevo-telurito. Se mezcla uniformemente, sin burbujas, y se prepara placas de Petri.

Agar desoxirribonucleasa (DNase Agar , CM 321 OXOID)

Composición:

Triptona.....	20,00g
Acido desoxirribonucleico.....	2,00g
Cloruro sódico.....	5,00g
Agar.....	12,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento y agitación hasta ebullición. Se ajusta el pH a $7,3 \pm 0,2$. Se distribuye en tubos a razón de 15ml y se autoclava a 121°C durante 15 minutos. Se prepara placas de Petri con el medio en el momento de su uso.

Acido clorhídrico 1N

III.2.3.6.3. Técnica

A partir de la serie de diluciones decimales y por duplicado se siembra 0,1ml de cada dilución sobre la superficie bien seca de agar Baird-Parker contenido en

placas de Petri. Se disemina con asa de vidrio estéril y se incuba en estufa a 37°C durante 48 horas.

A partir de las colonias típicas crecidas sobre el medio Baird-Parker se siembra en estrías radiales sobre la superficie de agar DNasa. Se incuba a 37°C durante 18-24 horas. Sobre el crecimiento se vierte ácido clorhídrico 1 N y se espera unos minutos a que se produzca la reacción, que consiste en la aparición de una zona transparente a su alrededor, lo que indica que el microorganismo en estudio ha liberado desoxirribonucleasa.

III.2.3.6.4. Resultado

Las colonias típicas de *Staphylococcus aureus* sobre agar Baird-Parker después de 24 horas son negras, brillantes, convexas, de 1 a 1,5 mm de diámetro, con un borde intacto blanco y estrecho y rodeado de una zona de aclaramiento de 2 a 5 mm de anchura.

El cloruro de litio y el telurito potásico que forman parte del medio inhiben el desarrollo de la flora competitiva; el piruvato sódico y la glicina favorecen el crecimiento de los estafilococos.

El medio de cultivo es opaco, debido a que se le incorpora emulsión de yema de huevo. El *S. aureus* elabora una lipasa que, al actuar sobre la lipoproteína de la yema de huevo produce un aclaramiento alrededor de las colonias y una zona opaca como consecuencia de la formación de un precipitado de sales de calcio y magnesio, insoluble en ácidos grasos. Esta zona opaca se hace visible a partir de las 24 horas de incubación.

Una vez contadas las colonias en el medio Baird-Parker, la cifra obtenida se multiplica por el factor de dilución de la placa, lo que da como resultado el recuento total de *S. aureus* en 0,1 gramo del producto analizado, esta cifra multiplicada por 10 expresa el recuento total de *S. aureus* por gramo o mililitro de muestra.

III.2.3.7. Recuento de *Clostridium* sulfito reductores

El grupo bacteriano de los sulfito-reductores está integrado por microorganismos pertenecientes al género *Clostridium*, que tienen en común reducir el sulfito a sulfuro.

Se suelen usar para apreciar la calidad higiénica del agua y productos animales o de origen animal. Su número es escaso en productos frescos. La capacidad de esporular de los microorganismos pertenecientes a este grupo les confiere una gran resistencia.

III.2.3.7.1. Método

Investigación y recuento de *Clostridium* sulfito-reductores en agar sulfito-polimixina-sulfadiazina.

III.2.3.7.2. Medio de cultivo

Agar sulfito-polimixina-sulfadiazina (Sulfit Polimixine Sulfadiazine, SPS, 85627 FLUKA)

Composición:

Peptona de caseína.....	15,00g
Extracto de levadura.....	10,00g
Citrato férrico.....	0,50g
Sulfito de sodio.....	0,50g
Sulfato de polimixina B.....	0,01g
Sulfadiazina sódica.....	0,12g
Agar.....	14,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento y se ajusta el pH a $7 \pm 0,1$. Se distribuye en tubos a razón de 15ml por tubo y se esteriliza en autoclave a 121° durante 20 minutos. Se enfría rápidamente a la salida del autoclave.

Parafina estéril

III.2.3.7.3. Técnica

Se licúa el medio y se deja enfriar a 47-50°C. A partir de la serie de diluciones decimales, y por duplicado, se siembra con pipeta estéril 1ml de cada dilución en tubos conteniendo el medio SPS. Se introduce la pipeta con el inóculo hasta el fondo y se va depositando lentamente desde éste hasta la superficie. Una vez sembrados los tubos, se pone una capa de parafina estéril en la superficie. Cuando se ha solidificado el medio, se lleva a la estufa a 46°C durante 24 horas.

III.2.3.7.4. Resultado

Después de este tiempo se cuenta el número de colonias negras que hayan podido crecer en los tubos, multiplicando por el factor de dilución para obtener el recuento total de colonias de formas vegetativas y esporos de *Clostridium* sulfito-reductores, conjuntamente, por gramo de muestra.

El SPS es un agar selectivo para microorganismos sulfito-reductores. En su composición entra el sulfito sódico que por la acción de la mayor parte de los *Clostridium* se reduce a sulfuro. El sulfuro, al reaccionar con el citrato de hierro, da lugar a un precipitado negro de sulfuro de hierro alrededor de las colonias. Los microorganismos no esporulados gramnegativos quedan inhibidos por la sulfadiazina.

III.2.3.8. Recuento de *Enterococcus spp.*

Los miembros de este género se caracterizan por su forma cocoide y por su agrupación en parejas o en cadenas. Son, generalmente, inmóviles, no esporulados, grampositivos y catalasa-negativos, microaerófilos o anaerobios facultativos.

La presencia de gran número de enterococos en los alimentos implica prácticas inadecuadas de higiene o bien exposición del alimento a condiciones que pudieran haber permitido la multiplicación extensiva de bacterias no deseables. Pueden tener un papel significativo como indicadores de prácticas de limpieza y desinfección deficientes en las industrias de alimentos, debido a su gran resistencia a la desecación, a las temperaturas elevadas y bajas y a los detergentes y desinfectantes.

III.2.3.8.1. Método

Investigación y recuento en medio sólido Slanetz y Bartley por siembra en superficie.

III.2.3.8.2. Medio de cultivo

Agar Slanetz Bartley (SB, CM 377 OXOID)

Composición:

Triptosa.....	20,00g
Extracto de levadura.....	5,00g
Dextrosa.....	2,00g
Fosfato disódico dihidratado.....	4,00g
Azida de sodio.....	0,40g
Cloruro de tetrazolio.....	0,10g
Agar.....	10,00g
Agua destilada.....	1000ml

Se disuelve por calentamiento hasta ebullición. Se evita un calentamiento excesivo. No se autoclava. Se distribuye en placas de Petri a razón de 15ml por placa y se deja solidificar.

III.2.3.8.3. Técnica

A partir de las diluciones decimales se siembra en superficie 0,1ml mediante una varilla de vidrio estéril. Se invierten las placas y se incuban a 42-44°C durante 48 horas.

III.2.3.8.4. Resultado

Se cuentan las colonias típicas rosa o rojo oscuro, con un borde blancuzco estrecho. La cifra obtenida se multiplica por el factor de dilución de la placa, lo que da como resultado el recuento total de *Enterococcus spp.* en 0,1 gramo del producto analizado, esta cifra multiplicada por 10 expresa el recuento total de *Enterococcus spp.* por gramo o mililitro de muestra.

III.3. ANÁLISIS DE PELIGROS Y PUNTOS DE CONTROL CRÍTICOS DE COMEDORES ESCOLARES.

Los problemas microbiológicos pueden presentarse cuando no se alcanza el efecto deseado y esto suele ser consecuencia de errores en los procedimientos de manipulación o de procesado. La detección de dichos errores, su rápida corrección y prevención en el futuro son el principal objetivo de cualquier sistema de control microbiológico.

III.3.1. Selección de colegios

Se estudia 92 colegios, 55 de gestión directa y 37 de gestión contratada. La selección de éstos se realiza teniendo en cuenta la disponibilidad de éstos en el momento de cumplimentar el cuestionario.

En la tabla 42 y 43 se da un listado de los colegios de gestión directa y contratada, respectivamente, seleccionados para el estudio.

Tabla 42. Colegios seleccionados de gestión directa

COLEGIO	MUNICIPIO
TIJOCO DE ABAJO	ADEJE
NTRA. SRA. DE LA LUZ	ARICO
VILLA DE ARICO	ARICO
CABO BLANCO	ARONA
PÉREZ VALERO	ARONA
NICOLÁS DÍAZ DORTA	BUENAVISTA
IGUESTE	CANDELARIA
GUAJARA	FASNIA
ANTONIO DEL VALLE	GARACHICO
GRANADILLA DE ABONA	GRANADILLA
ALMÁCIGO	GUÍA DE ISORA
LA CUMBRITA	GUÍA DE ISORA
TEOBALDO POWER	GUÍA DE ISORA
JULIÁN ZAFRA	GÜÍMAR
EMETERIO	ICOD DE LOS VINOS
JULIO DELGADO	ICOD DE LOS VINOS
NICOLÁS ESTÉVEZ	ICOD DE LOS VINOS
ACENTEJO	LA MATANZA
AGUAMANSA	LA OROTAVA
CAMINO DE CHASNA	LA OROTAVA
INOCENCIO SOSA	LA OROTAVA

MANUEL DE FALLA	LA OROTAVA
NTRA. SRA. DE LA CONCEPCIÓN	LA OROTAVA
SAN AGUSTÍN	LA OROTAVA
SANTA TERESA	LA OROTAVA
PRÍNCIPE FELIPE	LA VICTORIA
SANTO DOMINGO	LA VICTORIA
AREGUME	LOS SILOS
CÉSAR MANRRIQUE	PUERTO DE LA CRUZ
LA VERA	PUERTO DE LA CRUZ
S/C DE CALIFORNIA	S/C DE TENERIFE
SAN ISIDRO	S/C DE TENERIFE
TINCER	S/C DE TENERIFE
ANGELES BERMEJO	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
AYATIMAS	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
LAS MERCEDES	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
MARINA CEBRIÁN	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
MONTAÑA PACHO	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
NARCISO BRITO	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
PRÁCTICAS ANEJA	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
PRINCESA TEJINA	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
SAN LUIS GONZAGA	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
TEÓFILO PÉREZ	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
ANGEL GUIMERÁ	SAN JUAN DE LA RAMBLA
FRANCISCO AFONSO	SAN JUAN DE LA RAMBLA
JUAN BETHENCOURT	SAN MIGUEL
SAN MIGUEL	SAN MIGUEL
SAN FERNANDO	SANTA URSULA
LA CORUJERA	SANTA ÚRSULA
TAMAIMO	SANTIAGO DEL TEIDE
AGUA GARCÍA	TACORONTE
ERNESTO CASTRO	TACORONTE
GUAYONGE	TACORONTE
Mª ROSA ALONSO	TACORONTE
MAXIMILIANO GIL	TACORONTE

Tabla 43. Colegios seleccionados de gestión contratada

COLEGIO	MUNICIPIO
ANDRÉS OROZCO	ARAFO
ARONA	ARONA
LA CAMELLA	ARONA
LOS CRISTIANOS	ARONA
VALLE SAN LORENZO	ARONA
LOMO PELADO	EL ROSARIO
ADORACIÓN RODRÍGUEZ	GUÍA DE ISORA
AGACHE	GÜÍMAR
ALFONSO X EL SABIO	GÜÍMAR

BALDOMERO BETHENCOURT	ICOD DE LOS VINOS
CAMPINO	LA OROTAVA
SAN ANTONIO	LA OROTAVA
SANTO TOMÁS	LA OROTAVA
LAS SALINAS	LOS SILOS
ALONSO ESPINOLA	S/C DE TENERIFE
DRAGUILLO	S/C DE TENERIFE
EL CHAPATAL	S/C DE TENERIFE
LOS VERODES	S/C DE TENERIFE
MATÍAS LLABRES	S/C DE TENERIFE
OFRA BARRIO NUEVO	S/C DE TENERIFE
RODRÍGUEZ GALVÁN	S/C DE TENERIFE
SECUNDINO DELGADO	S/C DE TENERIFE
AGUERE	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
ATLÁNTIDA	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
CAMINO LARGO	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
CARMEN FERNÁNDEZ	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
FRANCISCA SANTOS	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
JOSE DE ANCHIETA	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
LAS CHUMBERAS	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
MELCHOR NÚÑEZ	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
PORETEZUELO	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
SAN BARTOLOMÉ	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
SAN BENITO	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
SANTA ROSA DE LIMA	SAN CRISTOBAL DE LA LAGUNA
MENCEY BENCOMO	SANTA ÚRSULA
SANTA ÚRSULA	SANTA ÚRSULA
BARRANCO LAS LAJAS	TACORONTE

III. 3.2. RECOGIDA DE DATOS

Con el consentimiento del personal de la cocina se les formula una serie de preguntas cumplimentando una ficha (se adjunta a continuación).

DATOS PRINCIPALES

NOMBRE COLEGIO :

DIRECCION :

MUNICIPIO :

GESTION : **Directa** **Contratada** **Otros**

Catering :

FECHA :

LOCAL PARA COCINA

- | | Si | No |
|---|--------------------------|--------------------------|
| • La zona de la cocina es independiente del resto de instalaciones | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Existen zonas diferenciadas para la manipulación de productos crudos y elaborados | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Dispone de agua caliente | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Dispone de lavamanos de accionamiento no manual | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Posee los lavamanos jabón líquido | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Posee los lavamanos cepillos de uñas | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Dispone de toallas de un sólo uso | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Posee papeleras | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ESTABLECIMIENTO

- | | Si | No |
|---|--------------------------|--------------------------|
| • Existe separación entre las distintas zonas de trabajo | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Abastecimiento de agua clorada de la red municipal | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Existen servicios higiénicos aislados de las dependencias y dotados de: | | |
| 1. lavamanos manual | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. jabón líquido | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. cepillos de uñas | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. toallas de un sólo uso | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. papeleras de un sólo uso | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 6. agua caliente | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Material y métodos

- Dispone de vestuarios
- Evacuación de residuos líquidos
- Existencias de recipientes de cierre hermético para residuos sólidos y almacenados en lugar separado y evacuación diaria
- Dispone de servicios de extracción de vapores
- Presencia de animales domésticos en el establecimiento

ALMACENAMIENTO DE MATERIAS PRIMAS

- | | Si | No |
|---|--------------------------|--------------------------|
| • Poseen documentos que garanticen el origen de las materias primas <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Las materias primas están colocadas sobre superficies aisladas del suelo <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Existe almacén para productos alimenticios que no requieren frío <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Disponen de cámaras frigoríficas con termómetro <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Cámaras frigoríficas separadas de la cocina <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Cámaras con termómetro para productos congelados <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Dentro de las cámaras, existe separación entre los distintos productos <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Cámaras con suficiente capacidad <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

EQUIPOS Y ÚTILES DE TRABAJO

- | | Si | No |
|--|--------------------------|--------------------------|
| • Las superficies de trabajo son de fácil limpieza <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Las superficies de trabajo están en buen estado de conservación <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Las picadoras, cuchillos y demás utensilios son de acero inoxidable <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

- El estado de conservación de las maquinarias y utensilios es correcto

PRÁCTICAS HIGIÉNICAS

- | | Si | No |
|--|--------------------------|--------------------------|
| Después de cada jornada se limpian y desinfectan: | | |
| • Los útiles | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Los elementos desmontables de maquinaria | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Los locales | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Se realiza desinfección, desinsectación y desratización | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Existe almacenamiento de productos de limpieza | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Proceso de limpieza del menaje, automático | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • El agua caliente para la limpieza del menaje está programada en la máquina para alcanzar los 80 °C | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

MANIPULADORES DE ALIMENTOS

- | | Si | No |
|---|--------------------------|--------------------------|
| • Poseen todos carnet de manipulador | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Utilizan indumentaria adecuada | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Utilizan indumentaria adecuada de uso exclusivo | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

ELABORACIÓN DE COMIDAS

- | | Si | No |
|--|--------------------------|--------------------------|
| • Uso de distintos aparatos y utensilios para productos crudos y cocinados | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Las verduras y hortalizas son lavadas de forma correcta | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • La elaboración de <i>cremas</i> , <i>mayonesas</i> y <i>natas</i> se realizan con la mínima antelación | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Material y métodos

1. Hasta su consumo se mantienen en refrigeración constante a $T \leq 3\text{ }^{\circ}\text{C}$
2. Se consumen antes de las 24 horas siguientes
- Para la elaboración de salsas y otros productos que llevan huevos y no precisen tratamiento térmico, se usan ovoproductos biológicamente estabilizados
 - En el centro de los productos que van a hacer almacenados para su consumo *en caliente* la T es $\geq 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de su consumo
1. Se consumen antes de las 24 horas siguientes
- Las *comidas refrigeradas* se almacenan a T de conservación $\leq 3\text{ }^{\circ}\text{C}$
1. Se consumen antes de las 24 horas siguientes
- La conservación de *comidas congeladas o ultracongeladas* se realiza en cámaras a $T \geq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$
 - Los alimentos expuestos están protegidos por vitrinas

Esta ficha se cumplimenta en todos los colegios con cocina de gestión directa, en el caso de los colegios con cocina de gestión contratada se omiten las partes del almacenamiento de materias primas y la elaboración de comidas, ya que, corren a cargo del catering contratado y al no tener acceso a los mismos no fue posible su valoración.

III.4. ANÁLISIS NUTRICIONAL DE LOS MENÚS DE COMEDORES ESCOLARES

La población escolar de los 131 comedores de los colegios públicos de la provincia de Santa Cruz de Tenerife en el curso escolar 1996/97 era de 20.955 niños. Este estudio es realizado en 52 comedores escolares con una población de 8.411 comensales comprendidos entre 4 y 12 años de edad.

En la evaluación del estado nutricional de un individuo o de un grupo, el análisis de la ingesta dietética constituye un apartado de extraordinaria importancia, puesto que permite detectar posibles riesgos de déficit nutricional.

III.4.1. SELECCIÓN DE LOS COLEGIOS

Los colegios que participaron en esta parte del estudio son los que se ofrecieron a responder a las preguntas formuladas acerca de la preparación de la comida, de los ingredientes, etc. Se consiguió que participarán un total de 58 colegios, lo que representa el 57% del colectivo, con 28 colegios de gestión directa (48%) y 30 colegios de gestión contratada (69%).

Destacar que en aquellos colegios cuyo número de comensales era muy bajo las raciones estaban contadas y no fue posible realizar el estudio.

El catering A nos facilita la composición desglosada por ingredientes de los menús que el niño tomará en el año escolar, con la cantidad en gramos de los mismos.

III.4.2. MÉTODO POR PESADA

El registro de alimentos por pesada consiste en la pesada del alimento antes de su consumo, anotándose el peso del mismo. Una vez finalizada la comida, se procede a pesar todos los desperdicios y sobras, que se restan de la cantidad anterior.

Cuando se trata de comidas realizadas fuera del hogar, se describen las porciones ingeridas y la forma de preparación, de manera que una persona experta y

entrenada pueda estimar el peso de la ración *a posteriori*. Para ello, es necesario conocer las recetas y formas culinarias habituales de la zona.

En algunos casos se procede al registro de alimentos por estimación del peso. Así podemos obtener valores medios de ingesta en la población estudiada, los colegios.

En nuestro caso, se realiza la valoración de la ingesta dietética en estos colectivos al visitar las cocinas de los centros de gestión directa y se recoge información acerca del menú, de la forma de preparación, de los ingredientes utilizados y la proporción de los mismos en cada plato, de la cantidad de aceite y sal añadidos, etc. Se realiza así la pesada de las distintas raciones ofrecidas a los escolares, pero no se recoge la pesada de desperdicios y sobras de los platos.

La pesada se realiza con una balanza electrónica de una precisión de $\pm 1g$ y con capacidad de pesar hasta 3kg.

En el caso de los menús ofertados por el catering se pesa la cantidad de la ración en el comedor escolar y por la guía aportada del desglose de los platos se sabe la composición nutricional de los menús.

Con estos datos, con el programa informático y con la utilización como referencia de la revisión de las Ingestas Recomendadas para la población española de Varela (1994), se evalúa la calidad de la dieta.

En la tabla 44 se dan los valores de las ingestas recomendadas de algunos nutrientes con la media de éstos para cada caso.

Tabla 44. Ingestas recomendadas de energía y nutrientes para la población española.

<i>Edad años</i>	<i>Energía Kcal</i>	<i>Proteínas g</i>	<i>Ca mg</i>	<i>Fe mg</i>	<i>I mg</i>	<i>Zn mg</i>	<i>Vit. A mg</i>	<i>Vit. D mg</i>	<i>Vit. E mg</i>
4-5	1700	30	800	9	70	10	300	10	7
6-9	2000	36	800	9	90	10	400	5	8
10-12 niños	2450	43	1000	12	125	15	1000	5	10
10-12 niñas	2300	41	1000	18	115	15	800	5	10
<i>MEDIA</i>	<i>2112,25</i>	<i>37,5</i>	<i>900</i>	<i>12</i>	<i>100</i>	<i>12,5</i>	<i>625</i>	<i>6,25</i>	<i>8,75</i>

Fuente: Varela. 1994.

III.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

III.5.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

El análisis estadístico de los resultados ha sido realizado con los programas Analysis y Statcalc del paquete informático Epi-Info V6.02 de los Centers for Disease Control (CDC) de Atlanta, EEUU.

A través del programa Analysis se obtienen los listados, frecuencias y tablas de los resultados, ordenándose los datos en forma individualizada o mediante cruce de variables.

Con el programa Statcalc se realiza la prueba del **chi cuadrado (c²)**, usando tablas de contingencia 2xN según cada caso, obteniéndose el valor de χ^2 derivado de la fórmula corregida de Yates. La fórmula usada es la siguiente:

$$\chi^2 = \frac{N[(axd)-(bxc)]-0,5xN)^2}{(H1xH2xV1xV2)}$$

Donde H1 y V1 representan los totales horizontales y verticales en los que está presente el parámetro a estudiar. H2 y V2 son totales en los que está ausente el parámetro y N el gran total. Sería así:

MUESTRAS NO APTAS Y APTAS			
Tipos de muestras o tratamiento de ellas	a	b	H1
	c	d	H2
	V1	V2	N

Se dan los valores de p para un grado de libertad usando la fórmula de Poole y Borchers (1977) y si fuese lo apropiado se realiza el cálculo exacto de probabilidades de Fisher según Rosner (1982), en el caso de que el valor de una de las celdillas sea inferior a 5.

III.5.2. ANÁLISIS NUTRICIONAL

Para la conversión de los alimentos en nutrientes se utilizó el programa Dietsource V 1.0 facilitado por la empresa Novartis SA a la unidad de Nutrición del Hospital de la Candelaria. Con la gestión de dietas, de platos y de alimentos se desglosa el menú escolar dando las proporciones en principios activos de éste.

RESULTADOS

IV.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

En este apartado se realiza la exposición de los resultados obtenidos. Debido al número y diversidad de muestras analizadas, los datos han sido agrupados en intervalos, con el fin de facilitar su interpretación.

La representación de estos resultados se muestra en histogramas.

IV.1.1. AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES

IV.1.1.1. Gestión directa

En la tabla 45 se muestran los resultados obtenidos en el recuento de microorganismos aerobios mesófilos (ufc/g) de los alimentos calientes y fríos servidos en los comedores escolares de gestión directa.

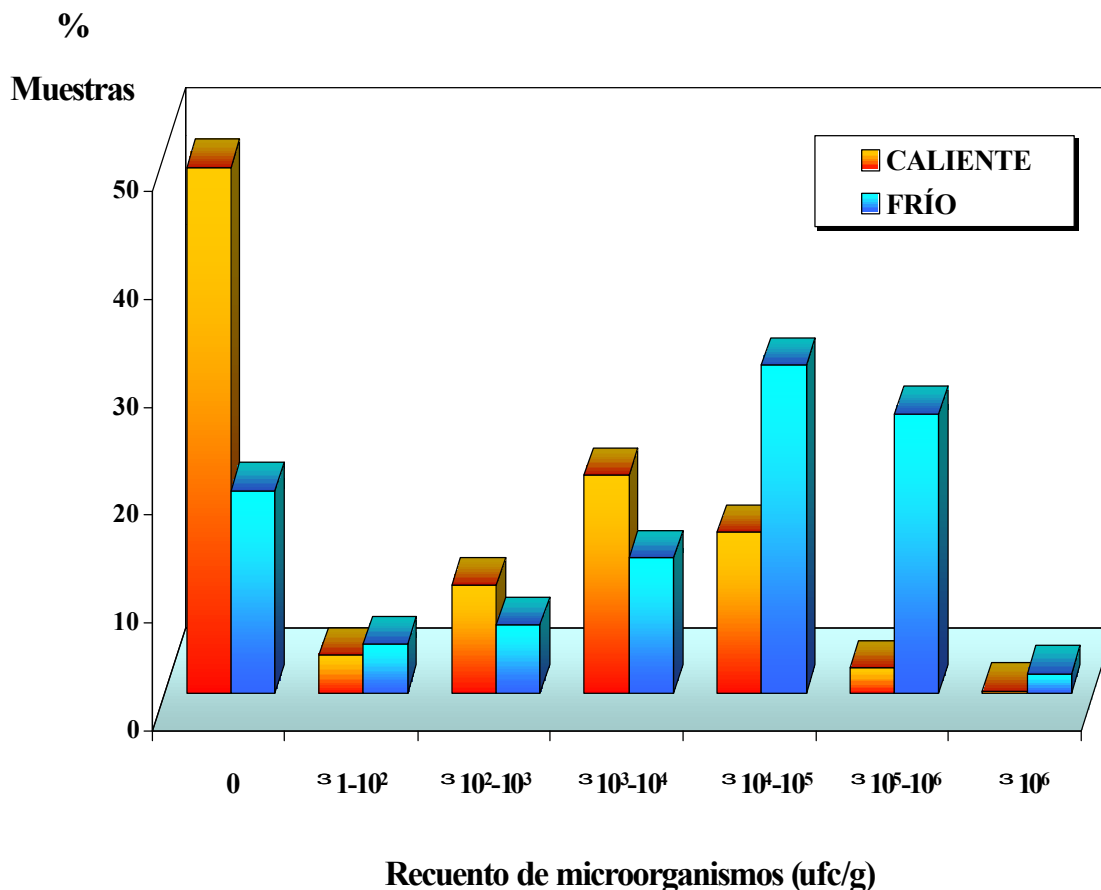
En el 48,6% de las muestras de platos calientes, los recuentos son negativos, mientras que en los fríos se da este resultado en un 19,1%.

**Tabla 45. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos (ufc/g).
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	<i>Calientes (%)</i>	<i>Fríos (%)</i>
0	210 (48,6%)	21 (19,1%)
$\geq 1 - 10^2$	15 (3,5%)	5 (4,5%)
$\geq 10^2 - 10^3$	43 (10,0%)	7 (6,4%)
$\geq 10^3 - 10^4$	87 (20,1%)	14 (12,7%)
$\geq 10^4 - 10^5$	66 (15,3%)	32 (29,1%)
$\geq 10^5 - 10^6$	10 (2,3%)	29 (26,4%)
$\geq 10^6$	1 (0,2%)	2 (1,8%)

El mayor número de recuentos (37,7%), en los platos calientes, se sitúa en el intervalo $\geq 10^3 - 10^6$ ufc/g y en los fríos entre $\geq 10^5 - 10^6$ ufc/g (26,4%), como se observa en la gráfica 1.

Gráfica 1 - GESTIÓN DIRECTA
Aerobios mesófilos totales



El recuento de aerobios mesófilos de gestión directa, según platos, se expresa en la tabla 46. En 114 muestras de primer plato (60,3%) no se detecta la presencia de aerobios mesófilos totales frente a 77 (35,5%) de las de segundo plato y 33 de complementos (46,4%). Asimismo, cabe destacar, que tan sólo 3 muestras (5,1%) de las ensaladas resultan negativas y que un gran número de muestras (51) presenta recuentos en el intervalo comprendido entre $\geq 10^2-10^5$ ufc/g.

**Tabla 46. Recuento de aerobios mesófilos totales (ufc/g) según platos.
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Muestras					TOTAL
	1 ^{er} Plato	Ensaladas	2 ^o Plato	Complementos	Postres	
0	114	3	77	33	4	231
$\geq 1 - 10^2$	3	2	12	3	0	20
$\geq 10^2 - 10^3$	13	3	26	7	1	50
$\geq 10^3 - 10^4$	28	10	54	8	1	101
$\geq 10^4 - 10^5$	24	21	41	12	0	98
$\geq 10^5 - 10^6$	6	17	7	8	1	39
$\geq 10^6$	1	2	0	0	0	3
TOTAL	189	58	217	71	7	542

IV.1.1.1.1. Muestras calientes

En las muestras calientes de primer plato, como se observa en la tabla 47, el mayor número de muestras positivas a este parámetro se encuentra en el intervalo $\geq 10^2 - 10^5$ ufc/g con 65 muestras (34,4%).

En las muestras de segundo plato hay un porcentaje del 25,7% (53 muestras) con recuentos en el intervalo $\geq 10^3 - 10^4$ ufc/g y casi la mitad de los complementos, 17 muestras (45,9%), tiene su recuento comprendido entre $\geq 10^2 - 10^5$ ufc/g, como ocurre con las muestras de primer plato. En todas las muestras analizadas el mayor porcentaje de recuentos se sitúa en el intervalo $\geq 10^3 - 10^4$ ufc/g.

En lo que respecta a las muestras de primer plato, el mayor número corresponde a los potajes con 68, seguido de sopas con 48, legumbres 42, purés 25 y 6 cremas. En los potajes se obtiene el mayor porcentaje de recuento positivo en el intervalo $\geq 10^3 - 10^5$ ufc/g, con 25 muestras, lo que representa un 36,7%. En este intervalo es donde los distintos tipos de muestras obtienen mayores recuentos, tal y como se observa en la tabla 48.

Tabla 47. Recuento de aerobios mesófilos totales (ufc/g) en las muestras calientes. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras calientes			
	1 ^{er} Plato	2 ^o Plato	Complementos	TOTAL
0	114	77	19	210
$\geq 1 - 10^2$	3	12	0	15
$\geq 10^2 - 10^3$	13	26	4	43
$\geq 10^3 - 10^4$	28	53	6	87
$\geq 10^4 - 10^5$	24	35	7	66
$\geq 10^5 - 10^6$	6	3	1	10
$\geq 10^6$	1	0	0	1
TOTAL	189	206	37	432

Tabla 48. Recuento de aerobios mesófilos totales (ufc/g) en las muestras calientes de primer plato. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras calientes de 1 ^{er} plato					TOTAL
	Cremas	Legumbres	Potajes	Purés	Sopas	
0	2	25	39	12	36	114
$\geq 1 - 10^2$	0	1	1	0	1	3
$\geq 10^2 - 10^3$	0	5	2	1	5	13
$\geq 10^3 - 10^4$	2	4	9	8	5	28
$\geq 10^4 - 10^5$	2	1	16	4	1	24
$\geq 10^5 - 10^6$	0	5	1	0	0	6
$\geq 10^6$	0	1	0	0	0	1
TOTAL	6	42	68	25	48	189

En las muestras calientes de segundo plato de gestión directa, son las croquetas las que presentan mayor porcentaje de recuento positivo de aerobios mesófilos totales, 13 casos positivos (86,6%), a continuación aparecen los pescados con un 31 muestras positivas (71%), 14 tortillas (70%), 45 muestras de carnes (63,4%), 8 pastas (47%) y el resto de alimentos manipulados que incluyen albóndigas, empanadillas, hamburguesas, pastel de carne y rollitos de primavera con 6 muestras positivas de 15 (40%) (tabla 49).

Tabla 49. Recuento de aerobios mesófilos totales (ufc/g) en las muestras calientes de 2° plato. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras calientes de 2° plato							TOTAL
	Carnes	Manipulados			Pastas	Pescados	Arroz	
Croquetas		Tortillas	R					
0	26	2	6	9	9	13	12	77
$\geq 1-10^2$	5	0	1	0	0	6	0	12
$\geq 10^2-10^3$	10	2	1	0	1	8	4	26
$\geq 10^3-10^4$	17	3	7	4	6	11	5	53
$\geq 10^4-10^5$	12	7	5	2	1	5	3	35
$\geq 10^5-10^6$	1	1	0	0	0	1	0	3
$\geq 10^6$	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	71	15	20	15	17	44	24	206

En los complementos calientes, el mayor porcentaje detectado de aerobios mesófilos totales se encuentra en las papas con 10 muestras (55,5%) y las salsas con 7 muestras (46,6%) (tabla 50).

Tabla 50. Recuento de aerobios mesófilos totales (ufc/g) en las muestras calientes de complementos. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras calientes de complementos				TOTAL
	Embutidos	Hortalizas guisadas	Papas	Salsas	
0	1	2	8	8	19
$\geq 1-10^2$	0	0	0	0	0
$\geq 10^2-10^3$	0	0	1	3	4
$\geq 10^3-10^4$	0	0	3	3	6
$\geq 10^4-10^5$	0	0	6	1	7
$\geq 10^5-10^6$	0	1	0	0	1
TOTAL	1	3	18	15	37

IV.1.1.1.2. Muestras frías

Ninguno de los menús escolares recogidos presenta primeros platos fríos. El grupo de ensaladas tiene un alto número de muestras con recuento de aerobios

mesófilos totales positivos (94,8 %). Las muestras de segundo plato analizadas son todas positivas para este parámetro. Los recuentos de los aerobios mesófilos en los complementos se distribuyen de forma dispersa y es en el intervalo de $\geq 10^5 - 10^6$ ufc/g donde existe un mayor número de muestras (7) (tabla 51).

**Tabla 51. Recuento de aerobios mesófilos totales (ufc/g) en las muestras frías.
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Muestras frías				
	Ensaladas	2º Plato	Complementos	Postres	TOTAL
0	3	0	14	4	21
$\geq 1 - 10^2$	2	0	3	0	5
$\geq 10^2 - 10^3$	3	0	3	1	7
$\geq 10^3 - 10^4$	10	1	2	1	14
$\geq 10^4 - 10^5$	21	6	5	0	32
$\geq 10^5 - 10^6$	17	4	7	1	29
$\geq 10^6$	2	0	0	0	2
TOTAL	58	11	34	7	110

En la tabla 52 se recoge el recuento de aerobios mesófilos totales en muestras frías de segundo plato. La totalidad de las incluidas en este apartado (huevos rellenos, ensaladillas, salpicón de pulpo, atún y pulpo guisado) resulta positiva para este parámetro.

**Tabla 52. Recuento de aerobios mesófilos totales (ufc/g) en las muestras frías de 2º plato.
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Muestras frías de 2º plato		
	Manipulados	Pescados	TOTAL
0	0	0	0
$\geq 1 - 10^2$	0	0	0
$\geq 10^2 - 10^3$	0	0	0
$\geq 10^3 - 10^4$	0	1	1
$\geq 10^4 - 10^5$	4	2	6
$\geq 10^5 - 10^6$	3	1	4
TOTAL	7	4	11

Los embutidos constituyen el grupo más numerosos dentro de los complementos fríos. Sin embargo, en los mojos y en las salsas es donde todas las muestras tienen recuento positivo para aerobios mesófilos (tabla 53).

Tabla 53. Recuento de aerobios mesófilos totales (ufc/g) en las muestras frías de complementos GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras frías de complementos					TOTAL
	Ebutidos	Hortalizas crudas	Huevos	Mojos	Salsas	
0	6	5	3	0	0	14
$\geq 1 - 10^2$	2	1	0	0	0	3
$\geq 10^2 - 10^3$	1	1	0	1	0	3
$\geq 10^3 - 10^4$	0	1	0	0	1	2
$\geq 10^4 - 10^5$	0	0	1	4	0	5
$\geq 10^5 - 10^6$	2	0	3	1	1	7
TOTAL	11	8	7	6	2	34

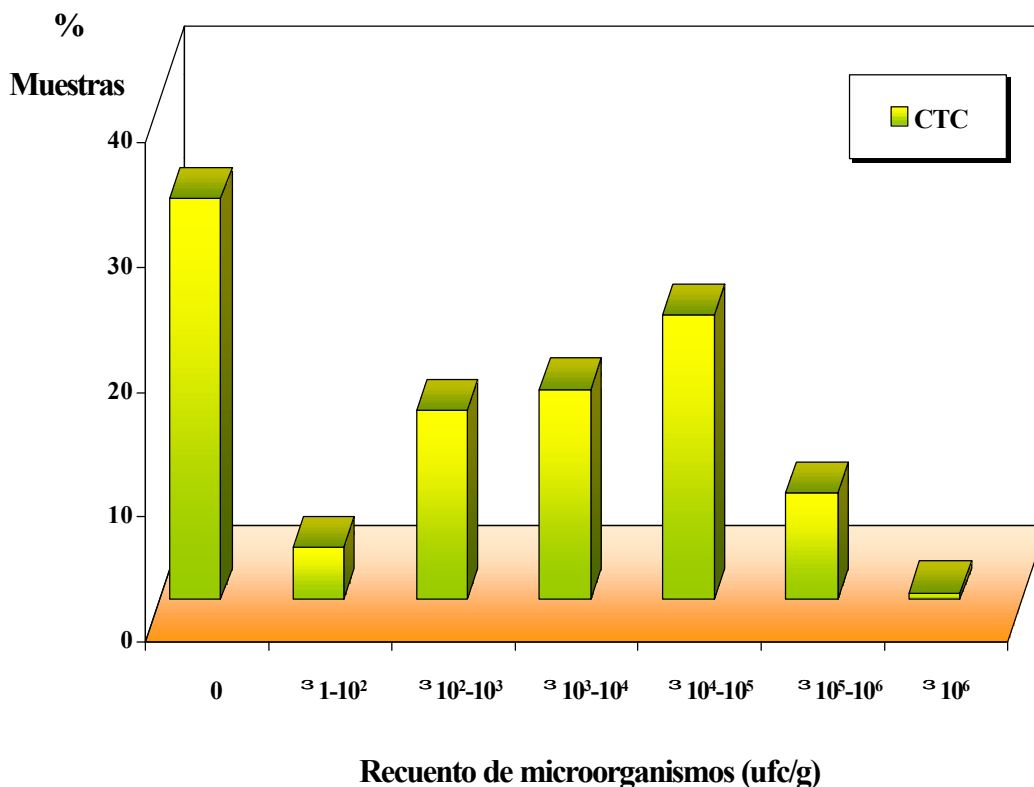
IV.1.1.2. Gestión contratada

En la tabla 54 y en la gráfica 2 se reflejan los resultados obtenidos en el recuento de microorganismos aerobios mesófilos (ufc/g) de los alimentos servidos en los comedores escolares de gestión contratada.

Tabla 54. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos (ufc/g). GESTIÓN CONTRATADA.

Intervalo	Número de muestras	Porcentaje
0	117	32,1%
$\geq 1 - 10^2$	15	4,1%
$\geq 10^2 - 10^3$	55	15,1%
$\geq 10^3 - 10^4$	61	16,8%
$\geq 10^4 - 10^5$	83	22,8%
$\geq 10^5 - 10^6$	31	8,5%
$\geq 10^6$	2	0,5%

**Gráfica 2 - GESTIÓN CONTRATADA
Aerobios mesófilos totales**



Todas las muestras analizadas son con tratamiento culinario.

El mayor número de recuentos positivos, 83, (22,8%) se sitúa en el intervalo $\geq 10^4 - 10^5$ ufc/g, mientras que en el 32,1%(117) de las muestras, los recuentos son negativos.

En la tabla 55 se observa el recuento de aerobios mesófilos totales según platos de gestión contratada, en el que se detecta un 63,2% en los primeros platos%(81 platos) con recuentos positivos, así como un 68,8%(104 platos) y un 66,6%(32) en segundos platos y complementos, respectivamente.

Tabla 55. Recuento de aerobios mesófilos totales(ufc/g) según platos. GESTIÓN CONTRATADA.

Intervalo	Muestras					
	1 ^{er} Plato	Ensaladas	2 ^o Plato	Complementos	Postres	TOTAL
0	47	5	48	16	1	117
$\geq 1 - 10^2$	9	0	5	1	0	15
$\geq 10^2 - 10^3$	25	3	22	5	0	55
$\geq 10^3 - 10^4$	15	5	35	6	0	61
$\geq 10^4 - 10^5$	28	6	38	11	0	83
$\geq 10^5 - 10^6$	4	14	6	7	0	31
$\geq 10^6$	0	0	0	2	0	2
TOTAL	128	33	154	48	1	364

Con relación a las muestras de primer plato de gestión contratada, el mayor porcentaje de positivas para aerobios mesófilos totales se encuentra en las cremas, con un 68,4% (13 cremas), en siguiente lugar aparecen las legumbres 65% (13), seguido de potajes 64,7% (22), purés 62% (18) y sopas 57,7% con 15 muestra (tabla 56).

**Tabla 56. Recuento de aerobios mesófilos totales (ufc/g) en las muestras de primer plato.
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Muestras de 1 ^{er} plato					TOTAL
	Cremas	Legumbres	Potajes	Purés	Sopas	
0	6	7	12	11	11	47
$\geq 1 - 10^2$	4	0	2	0	3	9
$\geq 10^2 - 10^3$	5	5	5	5	5	25
$\geq 10^3 - 10^4$	0	2	3	3	7	15
$\geq 10^4 - 10^5$	4	3	11	10	0	28
$\geq 10^5 - 10^6$	0	3	1	0	0	4
TOTAL	19	20	34	29	26	128

En lo que respecta a las muestras de segundo plato de gestión contratada, en todas las correspondientes a croquetas se obtienen recuentos en el intervalo de $\geq 10^4 - 10^5$ ufc/g. Los alimentos que presentan muestras positivas de aerobios mesófilos totales son los siguientes: 22 pastas (91,6%), 8 manipulados que corresponden a empanadillas y albóndigas (88,8%), 9 tortillas (69,2%), 25 pescados (64,1%), 25 carnes (60,9%) y 11 muestras de arroz (50%). En el intervalo comprendido entre $\geq 10^2 - 10^5$ ufc/g se encuentra el 61,6% de las muestras de segundo plato (95) de gestión contratada (tabla 57).

**Tabla 57. Recuento de aerobios mesófilos totales (ufc/g) en las muestras de 2º plato.
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Muestras de 2º plato							TOTAL
	Carnes	Manipulados			Pastas	Pescados	Arroz	
Croquetas		Tortillas	R					
0	16	0	4	1	2	14	11	48
$\geq 1 - 10^2$	1	0	0	0	1	1	2	5
$\geq 10^2 - 10^3$	7	0	0	1	2	7	5	22
$\geq 10^3 - 10^4$	8	0	4	2	12	6	3	35
$\geq 10^4 - 10^5$	9	6	4	4	6	8	1	38
$\geq 10^5 - 10^6$	0	0	1	1	1	3	0	6
TOTAL	41	6	13	9	24	39	22	154

Las papas son el grupo mayoritario de los complementos, con un porcentaje del 43,7%, de las que un 71,4% de éstas (15 muestras) son positivas para aerobios mesófilos totales. En segundo lugar, en lo que a número de muestras se refiere, se sitúan los mojos, donde se obtienen 10 muestras con recuentos positivos (90,9%) (tabla 58).

**Tabla 58. Recuento de aerobios mesófilos totales (ufc/g) en las muestras de 2º plato de complementos.
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Muestras de complementos							TOTAL
	Embutidos	Hortalizas guisadas	Hortalizas crudas	Huevos	Mojos	Papas	Salsas	
0	2	2	0	0	1	6	5	16
$\geq 1 - 10^2$	0	0	0	0	0	1	0	1
$\geq 10^2 - 10^3$	0	0	0	0	2	2	1	5
$\geq 10^3 - 10^4$	0	0	0	0	2	4	0	6
$\geq 10^4 - 10^5$	1	0	1	1	1	6	2	11
$\geq 10^5 - 10^6$	1	0	0	0	3	2	0	7
$\geq 10^6$	0	0	0	0	2	0	0	2
TOTAL	4	2	1	1	11	21	8	48

IV. 1. 2. ENTEROBACTERIACEAE TOTALES

IV.1.2.1. Gestión directa

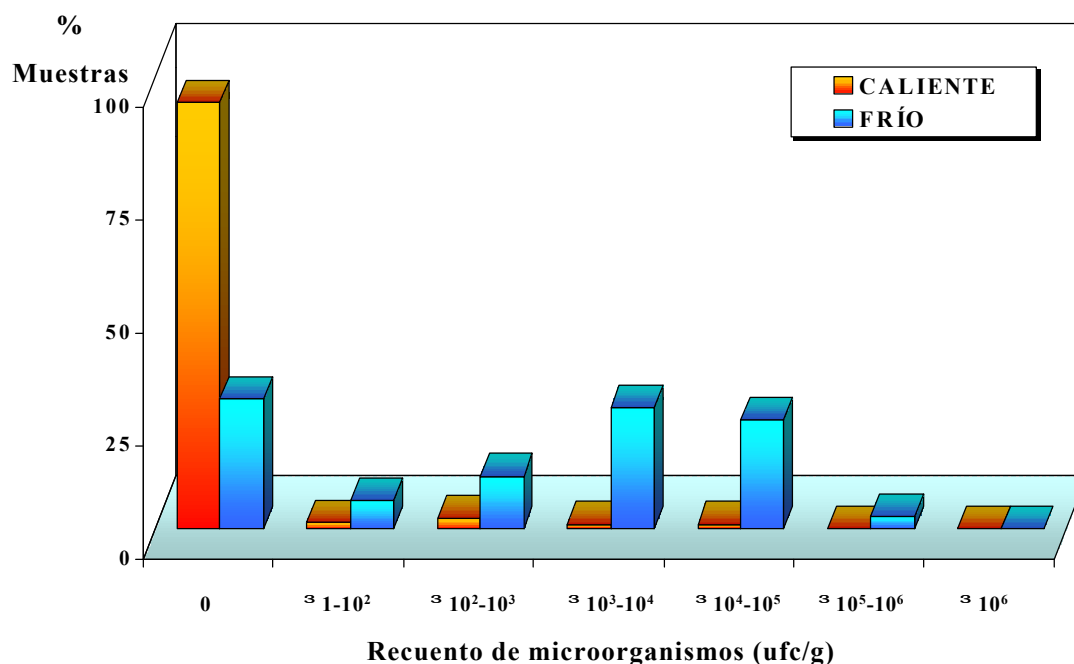
De la totalidad de las muestras analizadas, sólo en el 6,1% de las muestras de alimentos calientes servidos en comedores escolares de gestión directa se obtienen recuentos positivos para *Enterobacteriaceae* totales. Sin embargo, el 70,9% de las muestras de alimentos fríos resulta positiva para este parámetro.

En la tabla 59 se muestran los resultados de alimentos calientes y fríos y en la gráfica 3, la representación de los mismos en histogramas.

Tabla 59. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g).

GESTIÓN DIRECTA.		
Intervalo	Calientes (%)	Fríos (%)
0	406 (94,0%)	32 (29,1%)
$\geq 1 - 10^2$	6 (1,4%)	7 (6,4%)
$\geq 10^2 - 10^3$	10 (2,3%)	13 (11,8%)
$\geq 10^3 - 10^4$	5 (1,2%)	29 (26,4%)
$\geq 10^4 - 10^5$	5 (1,2%)	26 (23,6%)
$\geq 10^5 - 10^6$	0	3 (2,7%)

Gráfica 3 - GESTIÓN DIRECTA
Enterobacteriaceae totales



El mayor porcentaje de muestras de gestión directa (40%) corresponde a muestras de segundo plato y un 34,8% a las muestras de primer plato. Las ensaladas, con un 10,7% de representación en la totalidad de las muestras, son las que resultan con recuentos positivos en un 94,8% (55 muestras). En contraposición, aparecen los complementos ya que sólo el 14,2% (13 muestras) de ellos resulta con recuento positivo para *Enterobacteriaceae* totales, tal y como se observa en la tabla 60.

Tabla 60. Recuento en *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g) según platos. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras					TOTAL
	1 ^{er} Plato	Ensaladas	2 ^o Plato	Complementos	Postres	
0	188	3	183	58	6	438
$\geq 1 - 10^2$	0	2	7	4	0	13
$\geq 10^2 - 10^3$	1	9	9	3	1	23
$\geq 10^3 - 10^4$	0	24	8	2	0	34
$\geq 10^4 - 10^5$	0	17	10	4	0	31
$\geq 10^5 - 10^6$	0	3	0	0	0	3
TOTAL	189	58	217	71	7	542

IV.1.2.1.1. Muestras calientes

En los platos calientes de primer plato sólo en una muestra se obtiene recuento positivo, un puré de zanahorias, comprendido en el intervalo de $\geq 10^2 - 10^3$ ufc/g.

El 11,1% (23 muestras) de las muestras de segundo plato hay recuento positivo para *Enterobacteriaceae* totales y en el 5,4% (2) de los complementos (tabla 61).

Tabla 61. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g) en las muestras calientes. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras calientes			TOTAL
	1 ^{er} Plato	2 ^o Plato	Complementos	
0	188	183	35	406
$\geq 1 - 10^2$	0	6	0	6
$\geq 10^2 - 10^3$	1	8	1	10
$\geq 10^3 - 10^4$	0	5	0	5
$\geq 10^4 - 10^5$	0	4	1	5
TOTAL	189	206	37	432

Resultados

En la tabla 62, se expresa el recuento de *Enterobacteriaceae* totales en las muestras calientes de 2° plato de gestión directa. Las carnes, que representan el 34,5% de las muestras de este grupo, son positivas en el 16,9% (12 muestras). Las croquetas presentan un 20% de recuentos positivos. Destacamos, que ninguna de las muestras de pastas presenta recuento positivo para este parámetro y sólo un 4,1% de las muestras de arroz resulta positiva.

Tabla 62. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g) en las muestras calientes de 2° plato. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras calientes de 2° plato							TOTAL
	Carnes	Manipulados				Pescados	Arroz	
Croquetas		Tortillas	R					
0	59	12	19	14	39	23	17	183
$\geq 1 - 10^2$	2	0	1	1	2	0	0	6
$\geq 10^2 - 10^3$	5	1	1	0	1	0	0	8
$\geq 10^3 - 10^4$	4	0	0	0	0	1	0	5
$\geq 10^4 - 10^5$	1	2	0	0	1	0	0	4
TOTAL	71	15	21	15	43	24	17	206

Sólo se obtienen 2 recuentos positivos para *Enterobacteriaceae* totales en las muestras calientes de complementos. Una salsa en el intervalo $\geq 10^2 - 10^3$ ufc/g de las salsas y una hortaliza guisada en el intervalo $\geq 10^4 - 10^5$ ufc/g, como se observa en la tabla 63.

Tabla 63. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g) en las muestras calientes de complementos. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras calientes de complementos				TOTAL
	Embutidos	Hortalizas guisadas	Papas	Salsas	
0	1	2	18	14	35
$\geq 10^2 - 10^3$	0	0	0	1	1
$\geq 10^3 - 10^4$	0	0	0	0	0
$\geq 10^4 - 10^5$	0	1	0	0	1
TOTAL	1	3	18	15	37

IV.1.2.1.2. Muestras frías.

La totalidad de las muestras de ensaladas de gestión directa se incluyen en este grupo y de ellas, un 94,8% son positivas para *Enterobacteriaceae* totales (tabla 64).

Todas las muestras de segundo plato (con 10 muestras de manipulados y 1 de pescado) tienen recuentos positivos y, de ellas, el mayor número de muestras se sitúa en el intervalo $\geq 10^4 - 10^5$ ufc/g, de la forma que se desglosa en la tabla 65.

**Tabla 64. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g) en las muestras frías.
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Muestras frías				
	Ensaladas	2º Plato	Complementos	Postres	TOTAL
0	3	0	23	6	32
$\geq 1 - 10^2$	2	1	4	0	7
$\geq 10^2 - 10^3$	9	1	2	1	13
$\geq 10^3 - 10^4$	24	3	2	0	29
$\geq 10^4 - 10^5$	17	6	3	0	26
$\geq 10^5 - 10^6$	3	0	0	0	3
TOTAL	58	11	34	7	110

**Tabla 65. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g) en las muestras frías de 2º plato.
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Muestras frías de 2º Plato		
	Manipulados	Pescados	TOTAL
0	0	0	0
$\geq 1 - 10^2$	0	1	1
$\geq 10^2 - 10^3$	1	0	1
$\geq 10^3 - 10^4$	3	0	3
$\geq 10^4 - 10^5$	6	0	6
TOTAL	10	1	11

En las muestras frías de complementos de gestión directa, son las hortalizas crudas las que presentan un mayor porcentaje de recuento positivo para *Enterobacteriaceae* totales con 4 muestras (44,4%). En los embutidos, un 30% de muestras (3) son positivas para este parámetro (tabla 66).

**Tabla 66. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g) en las muestras frías de complementos.
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Muestras frías de complementos					TOTAL
	Embutidos	Hortalizas crudas	Huevos	Mojos	Salsas	
0	7	5	5	5	1	23
$\geq 1 - 10^2$	2	2	0	0	0	4
$\geq 10^2 - 10^3$	0	2	0	0	0	2
$\geq 10^3 - 10^4$	0	0	2	0	0	2
$\geq 10^4 - 10^5$	1	0	0	1	1	3
<u>TOTAL</u>	10	9	7	6	2	34

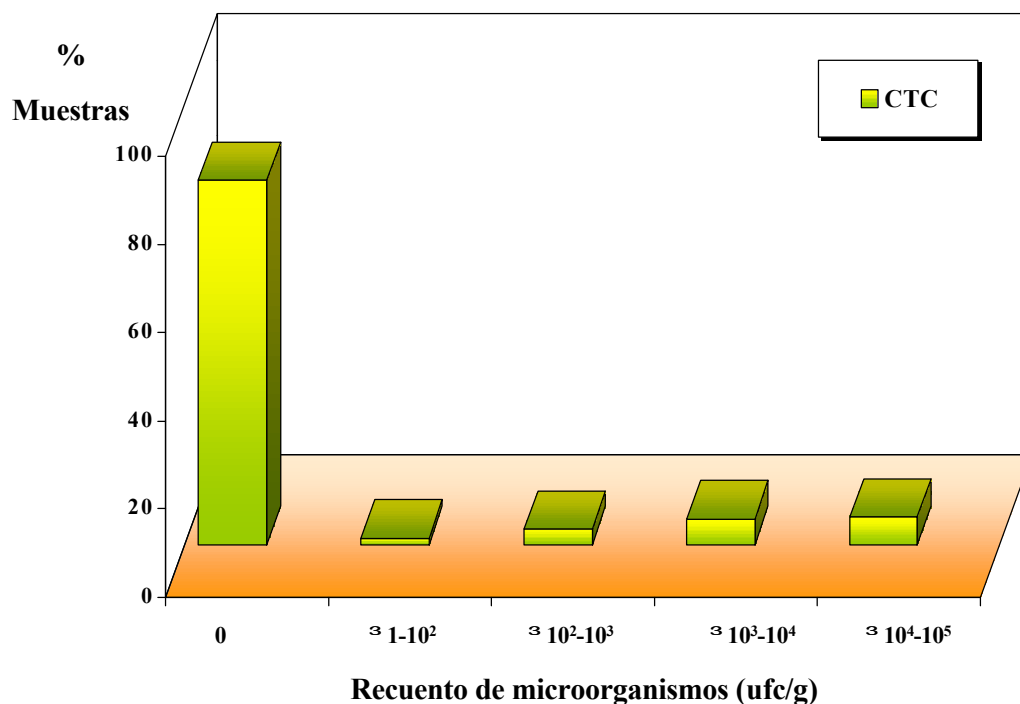
V.1.2.2. Gestión contratada

El 82,7% de las muestras de alimentos servidos en comedores escolares de gestión contratada es negativa a *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g) totales como se refleja en la tabla 67 y su representación en histogramas en la gráfica 4.

**Tabla 67. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g).
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Número de muestras	Porcentaje
0	301	82,7%
$\geq 1 - 10^2$	6	1,6%
$\geq 10^2 - 10^3$	13	3,6%
$\geq 10^3 - 10^4$	21	5,8%
$\geq 10^4 - 10^5$	23	6,3%

**Gráfica 4 - GESTIÓN CONTRATADA
Enterobacteriaceae totales**



Todas las muestras de primer plato y postres de gestión contratada, tienen recuentos negativos para el parámetro de *Enterobacteriaceae* totales, sin embargo, en las ensaladas, el 84,8% presenta recuento positivo (28 muestras). En los segundos platos, sólo el 18,2% (28 muestras) obtiene recuento positivo y un 14,6% en las muestras de complementos (7) como se refleja en la tabla 68.

Tabla 68. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g) según platos. GESTIÓN CONTRATADA.

Intervalo	Muestras					
	1 ^{er} Plato	Ensaladas	2 ^o Plato	Complementos	Postres	TOTAL
0	128	5	126	41	1	301
$\geq 1 - 10^2$	0	2	4	0	0	6
$\geq 10^2 - 10^3$	0	1	10	2	0	13
$\geq 10^3 - 10^4$	0	11	7	3	0	21
$\geq 10^4 - 10^5$	0	14	7	2	0	23
TOTAL	128	33	154	48	1	364

El 41,6% de las muestras de manipulados (5 muestras de albóndigas y empanadillas) es positiva para *Enterobacteriaceae* totales, si bien, todas las muestras de croquetas son negativas para este parámetro. En las pastas se obtiene un 23,8% de positivas (5), en las 3 muestras de tortillas 23,1%, en las carnes 18,6% (8), en pescados 14,7% (4) y en los derivados (2) del arroz un 8% (tabla 69).

Tabla 69. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g) en las muestras de 2^o plato. GESTIÓN CONTRATADA.

Intervalo	Muestras de 2 ^o plato								
	Carnes	Manipulados				Pastas	Pescados	Arroz	TOTAL
		Croquetas	Tortillas	R					
0	35	6	10	7	16	29	23	126	
$\geq 1 - 10^2$	2	0	0	0	1	0	1	4	
$\geq 10^2 - 10^3$	3	0	0	1	2	3	1	10	
$\geq 10^3 - 10^4$	1	0	1	2	2	1	0	7	
$\geq 10^4 - 10^5$	2	0	2	2	0	1	0	7	
TOTAL	43	6	13	12	21	34	25	154	

En las muestras de complementos de gestión contratada se obtienen recuentos positivos para *Enterobacteriaceae* totales: en las hortalizas crudas un 100%, los embutidos 50% y los mojos 33,3%. El resto de las muestras no presentan recuento para este parámetro como se refleja en la tabla 70.

**Tabla 70. Recuento de *Enterobacteriaceae* totales (ufc/g) en las muestras de complementos.
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Muestras de complementos							TOTAL
	Embutidos	Hortalizas guisadas	Hortalizas crudas	Huevos	Mojos	Papas	Salsas	
0	2	2	0	1	8	20	8	41
$\geq 10^2 - 10^3$	0	0	0	0	2	0	0	2
$\geq 10^3 - 10^4$	1	0	1	0	1	0	0	3
$\geq 10^4 - 10^5$	1	0	0	0	1	0	0	2
<u>TOTAL</u>	4	2	1	1	12	20	8	48

IV. 1. 3. COLIFORMES TOTALES

IV.1.3.1. Gestión directa

Los recuentos bacterianos (NMP ufc/g) sólo son aproximaciones debido a la variabilidad de diversos factores como la técnica del analista, errores en las diluciones y cantidades vertidas en los tubos con el medio de cultivo.

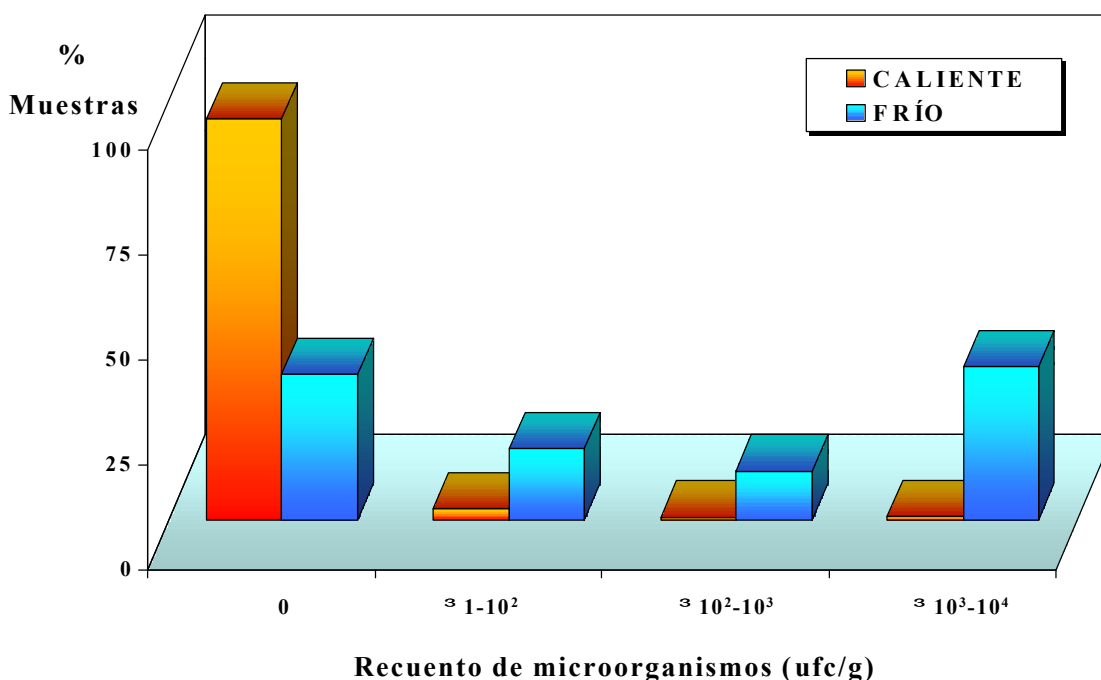
En la tabla 71 se reflejan los resultados obtenidos del recuento de coliformes totales en los alimentos servidos en comedores escolares de gestión directa. Destacamos que en muestras de platos calientes el 95,6% presenta recuento negativo para este parámetro y en los platos fríos sólo un 34,5%. En estos últimos el 36,4% de las muestras analizadas presentan recuentos superiores a $10^3 - 10^4$ NMP ufc/g (número más probable de unidades formadoras de colonias por gramo) cómo se observa en la gráfica 5.

Tabla 71. Recuento de coliformes totales (NMP ufc/g).

GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Calientes (%)	Fríos (%)
0	413 (95,6%)	38 (34,5%)
$\geq 1 - 10^2$	11 (2,5%)	19 (17,3%)
$\geq 10^2 - 10^3$	3 (0,7%)	13 (11,8%)
$\geq 10^3 - 10^4$	5 (1,2%)	40 (36,4%)

**Gráfica 5 - GESTIÓN DIRECTA
Coliformes totales**



En la tabla 72 se expresa el recuento de coliformes totales en los distintos platos de gestión directa. Se observa como en los primeros platos y los postres no hay ninguna muestra con recuento positivo y que, por el contrario, el 94,8% (55 muestras) de las ensaladas resulta con recuentos positivos. El 12,7% (9 muestras) de los complementos y el 12,4% (27) de los segundos platos también obtienen recuento positivo.

Tabla 72. Recuento en coliformes totales (NMP ufc/g) según platos.

GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras					
	1 ^{er} Plato	Ensaladas	2 ^o Plato	Complementos	Postres	TOTAL
0	189	3	190	62	7	451
$\geq 1 - 10^2$	0	12	14	4	0	30
$\geq 10^2 - 10^3$	0	9	5	2	0	16
$\geq 10^3 - 10^4$	0	34	8	3	0	45
TOTAL	189	58	217	71	7	542

IV.1.3.1.1. Muestras calientes

En la tabla 73 se observa, como se ha dicho anteriormente, que los primeros platos y complementos no presentan recuento alguno para coliformes totales. Sin embargo, el 9,2% (19 muestras) de los segundos platos presenta recuento positivo para este parámetro donde destaca el intervalo $\geq 1 - 10^2$ NMP ufc/g con 11 muestras (5,3%) integrado mayoritariamente por carnes como refleja la tabla 74.

Destaca como grupo las croquetas con un 13,3% de recuentos positivos para este parámetro. Las muestras de pastas y de arroz no dan recuento positivo para coliformes totales.

Tabla 73. Recuento de coliformes totales (NMP ufc/g) en las muestras calientes.
GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras calientes			
	1 ^{er} Plato	2 ^o Plato	Complementos	TOTAL
0	189	187	37	413
$\geq 1 - 10^2$	0	11	0	11
$\geq 10^2 - 10^3$	0	3	0	3
$\geq 10^3 - 10^4$	0	5	0	5
TOTAL	189	206	37	432

**Tabla 74. Recuento de coliformes totales (NMP ufc/g) en las muestras calientes de 2° plato.
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Muestras calientes de 2° plato							
	Carnes	Manipulados			R	Pastas	Pescados	Arroz
Croquetas		Tortillas						
0	66	13	20	8	17	39	24	187
$\geq 1 - 10^2$	6	0	0	1	0	4	0	11
$\geq 10^2 - 10^3$	2	0	1	0	0	0	0	3
$\geq 10^3 - 10^4$	2	2	0	0	0	1	0	5
TOTAL	76	15	21	9	17	44	24	206

IV.1.3.1.2. Muestras frías

El 94,8% (55 muestras) de las ensaladas resulta con recuento positivo para coliformes totales. El 72,7% (8) de los segundos platos y el 26,5% (9) de los complementos también tienen recuentos positivos, mientras que ninguna de las muestras de postres presenta recuento alguno para este parámetro (tabla 75).

**Tabla 75. Recuento de coliformes totales (NMP ufc/g) en las muestras frías.
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Muestras frías				
	Ensaladas	2° Plato	Complementos	Postres	TOTAL
0	3	3	25	7	38
$\geq 1 - 10^2$	12	3	4	0	19
$\geq 10^2 - 10^3$	9	2	2	0	13
$\geq 10^3 - 10^4$	34	3	3	0	40
TOTAL	58	11	34	7	110

Destacamos que este 72,7% de los segundos platos corresponden en su mayoría a 7 manipulados (63,6%) y sólo una muestra (9,1%) es de pescados como se observa en la tabla 76.

Tabla 76. Recuento de coliformes totales (NMP ufc/g) en las muestras frías de 2° plato. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras frías de 2° plato		
	Manipulados	Pescados	TOTAL
0	3	0	3
$\geq 1 - 10^2$	2	1	3
$\geq 10^2 - 10^3$	2	0	2
$\geq 10^3 - 10^4$	3	0	3
TOTAL	10	1	11

El 26,5% de las muestras de complementos frías de gestión directa que presenta recuento positivo para coliformes totales corresponde a 3 hortalizas crudas (37,5%), a 4 embutidos (36,4%) y finalmente 2 huevos (28,6%). Las muestras de mojos y de salsas no tienen recuento alguno para este parámetro (tabla 77).

Tabla 77. Recuento de coliformes totales (NMP ufc/g) en las muestras frías de complementos GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras frías de complementos					
	Embutidos	Hortalizas crudas	Huevos	Mojos	Salsas	TOTAL
0	7	5	5	6	2	25
$\geq 1 - 10^2$	3	1	0	0	0	4
$\geq 10^2 - 10^3$	0	2	0	0	0	2
$\geq 10^3 - 10^4$	1	0	2	0	0	3
TOTAL	11	8	7	6	2	34

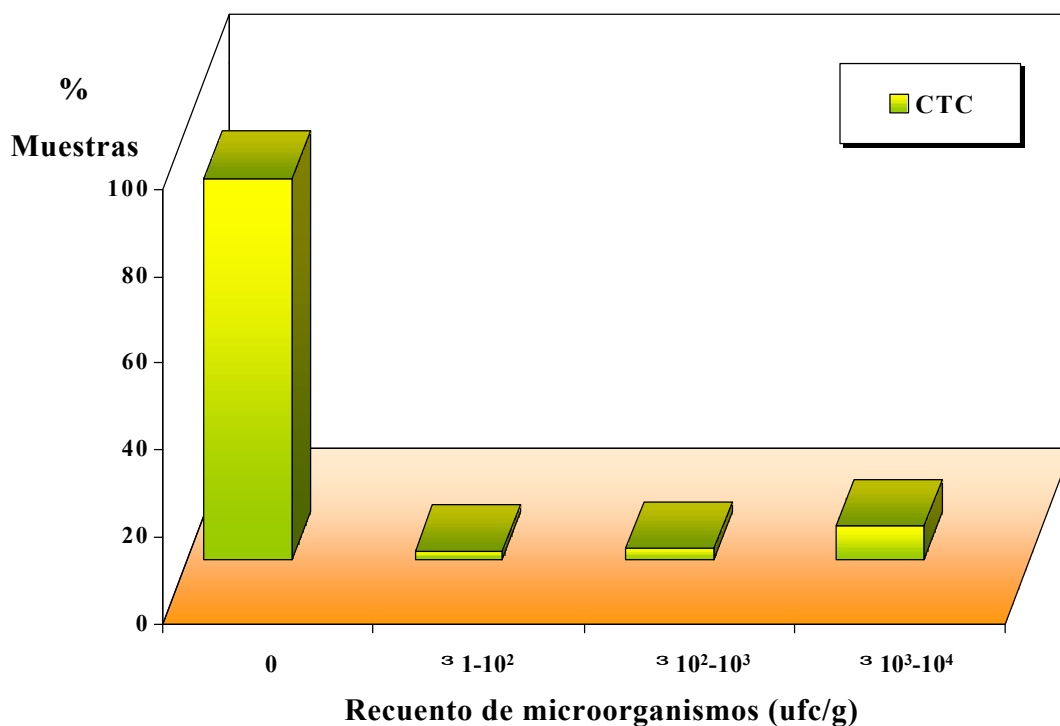
IV.1.3.2. Gestión contratada

En las muestras de gestión contratada el 87,9% no presenta recuento de coliformes totales. Sin embargo de los positivos, el mayor número detectado se observa en el intervalo de $\geq 10^3 - 10^4$ NMP ufc/g (tabla 78 y gráfica 6).

**Tabla 78. Recuento de coliformes totales (NMP ufc/g).
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Número de muestras	Porcentaje
0	320	87,9%
$\geq 1 - 10^2$	7	1,9%
$\geq 10^2 - 10^3$	9	2,5%
$\geq 10^3 - 10^4$	28	7,7%

**Gráfica 6 - GESTIÓN CONTRATADA
Coliformes totales**



En las muestras de primer plato y postres de gestión contratada no hay recuento de coliformes totales.

El 78,8% (26 muestras) de las ensaladas obtiene recuento positivo para este parámetro. El intervalo $\geq 10^3 - 10^4$ NMP ufc/g es donde mayor cantidad de muestras presentan recuentos para este parámetro. Sin embargo, sólo el 9,7% de los segundos platos (15) y el 6,2% de los complementos (3) tiene recuento positivo como se refleja en la tabla 79.

Tabla 79. Recuento de coliformes totales (NMP ufc/g) según platos. GESTIÓN CONTRATADA.

Intervalo	Muestras					
	1 ^{er} Plato	Ensaladas	2 ^o Plato	Complementos	Postres	TOTAL
0	128	7	139	45	1	320
$\geq 1 - 10^2$	0	3	4	0	0	7
$\geq 10^2 - 10^3$	0	4	4	1	0	9
$\geq 10^3 - 10^4$	0	19	7	2	0	28
TOTAL	128	33	154	48	1	364

El 9,7% de los segundos platos obtiene recuento positivo para coliformes totales y, a su vez, se desglosa con 42,8% (6 muestras) de manipulados, 14,6% (6 muestras) de carnes, 8% (2 muestras) de pastas y 3% (1 muestra) de pescados. Las croquetas, tortillas y derivados del arroz no presentan recuento para este parámetro (tabla 80).

Tabla 80. Recuento de coliformes totales (NMP ufc/g) en las muestras de 2^o plato. GESTIÓN CONTRATADA.

Intervalo	Muestras de 2 ^o plato							
	Manipulados				Pastas	Pescados	Arroz	TOTAL
	Carnes	Croquetas	Tortillas	R				
0	35	6	13	8	23	33	21	139
$\geq 1 - 10^2$	2	0	0	2	0	0	0	4
$\geq 10^2 - 10^3$	2	0	0	2	0	0	0	4
$\geq 10^3 - 10^4$	2	0	0	2	2	1	0	7
TOTAL	41	6	13	14	25	34	21	154

Resultados

De las tres muestras positivas de complementos de gestión contratada para coliformes totales tenemos que dos son embutidos y una es una hortaliza cruda. Los grupos restantes no presentan recuento alguno para estos microorganismos (tabla 81).

**Tabla 81. Recuento de coliformes totales (NMP ufc/g) en las muestras de complementos.
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Muestras de complementos							TOTAL
	Embutidos	Hortalizas guisadas	Hortalizas crudas	Huevos	Mojos	Papas	Salsas	
0	2	2	0	1	11	21	8	45
$\geq 1 - 10^2$	0	0	0	0	0	0	0	0
$\geq 10^2 - 10^3$	1	0	0	0	0	0	0	1
$\geq 10^3 - 10^4$	1	0	1	0	0	0	0	2
<u>TOTAL</u>	4	2	1	1	11	21	8	48

IV. 1. 4. COLIFORMES FECALES

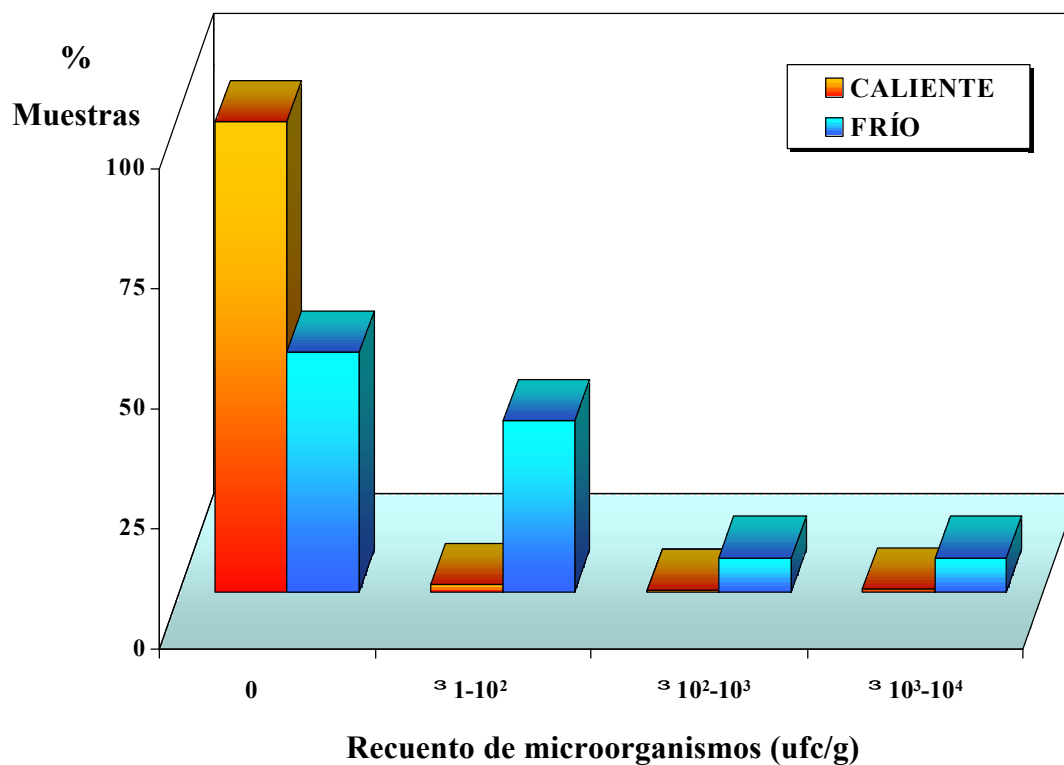
IV.1.4.1. Gestión directa

El recuento de coliformes fecales NMP ufc/g es positivo en el 2,3% de las muestras calientes analizadas de comedores escolares de gestión directa, mientras que en las muestras frías de los mismos comedores el recuento es muy superior 50,1% (tabla 82 y gráfica 7).

**Tabla 82. Recuento de coliformes fecales (NMP ufc/g).
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Calientes (%)	Fríos (%)
0	422 (97,7%)	55 (50,0%)
$\geq 1 - 10^2$	7 (1,6%)	39 (35,5%)
$\geq 10^2 - 10^3$	1 (0,2%)	8 (7,3%)
$\geq 10^3 - 10^4$	2 (0,5%)	8 (7,3%)

**Gráfica 7 - GESTIÓN DIRECTA
Coliformes fecales**

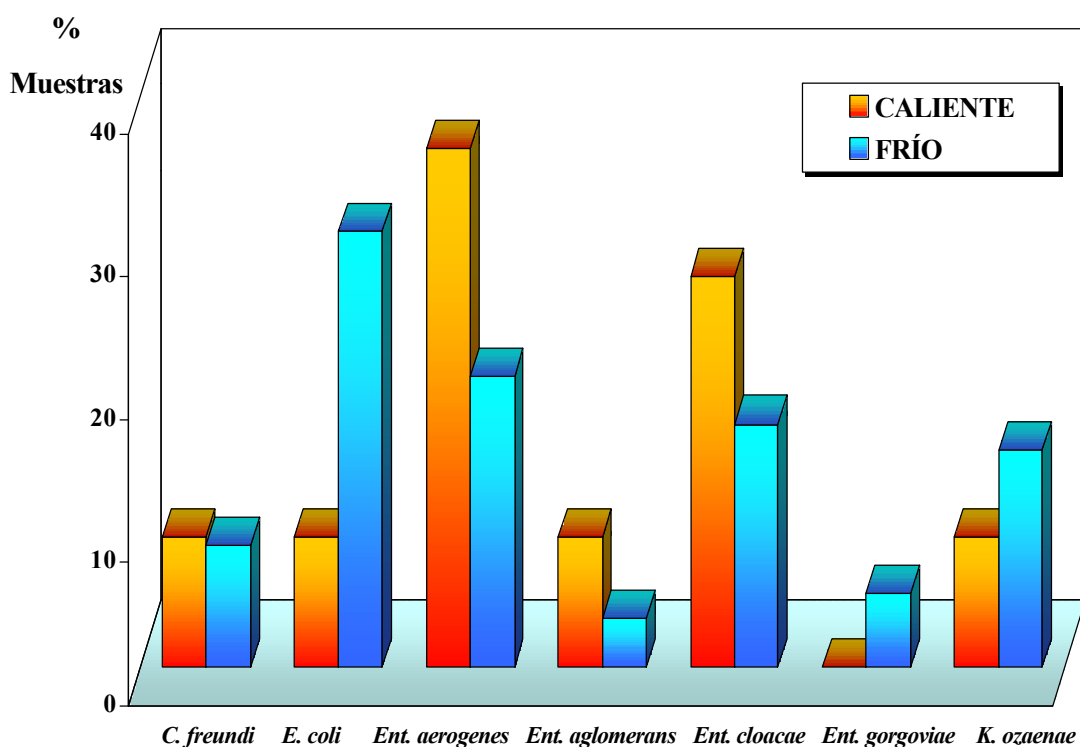


Los resultados de las especies de coliformes fecales identificados en platos calientes y fríos de comedores escolares de gestión directa se muestran en la tabla 83 y en la gráfica 9.

**Tabla 83. Especies de coliformes fecales.
GESTIÓN DIRECTA.**

Microorganismo	<i>Calientes (%)</i>	<i>Fríos (%)</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	1 (9,1%)	5 (8,6%)
<i>Escherichia coli</i>	1 (9,1%)	18 (31,0%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4 (36,3%)	12 (20,7%)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1 (9,1%)	2 (3,5%)
<i>Enterobacter cloacae</i>	3 (27,3%)	10 (17,2%)
<i>Enterobacter gorgoviae</i>	0	3 (5,2%)
<i>Klebsiella ozaenae</i>	1 (9,1%)	8 (13,8%)

**Gráfica 9 - GESTIÓN DIRECTA
Tipos de coliformes fecales**



Destacamos, como en el caso de coliformes totales, que las muestras de primer plato y los postres no presentan recuento alguno para coliformes fecales, pero son las ensaladas con un 72,4% (42 muestras) en las que se obtiene mayor porcentaje de recuento positivo para este parámetro (tabla 84).

Tabla 84. Recuento en coliformes fecales (NMP ufc/g) según platos. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras					TOTAL
	1 ^{er} Plato	Ensaladas	2 ^o Plato	Complementos	Postres	
0	189	16	201	64	7	477
$\geq 1 - 10^2$	0	27	12	7	0	46
$\geq 10^2 - 10^3$	0	7	2	0	0	9
$\geq 10^3 - 10^4$	0	8	2	0	0	10
TOTAL	189	58	217	71	7	542

IV.1.4.1.1. Muestras calientes

Los primeros platos y los complementos de las muestras calientes no presentan recuento para coliformes fecales. Un 4,8% (10 muestras de 206) de las muestras de segundo plato presenta recuento para los coliformes fecales (6 carnes, 1 croqueta, 1 tortilla, 2 pescados y 1 arroz), como se observa en la tabla 85 y en la tabla 86.

Tabla 85. Recuento de coliformes fecales (NMP ufc/g) en las muestras calientes. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras calientes			TOTAL
	1 ^{er} Plato	2 ^o Plato	Complementos	
0	189	196	37	422
$\geq 1 - 10^2$	0	7	0	7
$\geq 10^2 - 10^3$	0	1	0	1
$\geq 10^3 - 10^4$	0	2	0	2
TOTAL	189	206	37	432

Tabla 86. Recuento de coliformes fecales (NMP ufc/g) en las muestras calientes de 2° plato. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras calientes de 2° plato							TOTAL
	Carnes	Manipulados			Pastas	Pescados	Arroz	
Croquetas		Tortillas	R					
0	70	14	20	9	17	42	24	196
$\geq 1 - 10^2$	3	1	1	0	0	2	0	7
$\geq 10^2 - 10^3$	1	0	0	0	0	0	0	1
$\geq 10^3 - 10^4$	2	0	0	0	0	0	0	2
TOTAL	76	15	21	9	17	44	24	206

En la tabla 87, se observa el recuento de las distintas especies de coliformes fecales aislados de muestras calientes de gestión directa. En platos calientes se identifican 12 coliformes fecales, donde destaca *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae* con 4 y 3 aislamientos respectivamente, todas ellas correspondientes a segundos platos.

Tabla 87. Identificación de coliformes fecales (NMP ufc/g) según las muestras calientes de 2° plato. GESTIÓN DIRECTA.

Microorganismo	Muestras calientes de 2° plato				
	Carnes	Manipulados		Pescados	TOTAL
Croquetas		Tortillas			
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0	1	1
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	1	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4	0	0	0	4
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	0	0	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0	1	1	3
<i>Klebsiella ozaenae</i>	1	1	0	0	2
TOTAL	7	1	1	3	12

IV.1.4.1.2. Muestras frías

Es importante destacar que el 72,4% (42 muestras de 58 existentes) de ensaladas tienen recuento positivo para coliformes fecales, el 54,5% (6 de 11) de

los segundos platos y el 20,6% (7 de 34) de los complementos. La totalidad de los postres no presentan recuento (tabla 88).

Como refleja la tabla 89 hay un total 6 muestras frías que presentan recuento para coliformes fecales, donde se especifica que son 3 muestras de ensaladilla, 2 de salpicón de atún y 1 de huevo relleno.

**Tabla 88. Recuento de coliformes fecales (NMP ufc/g) en las muestras frías.
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Muestras frías				TOTAL
	Ensaladas	2º Plato	Complementos	Postres	
0	16	5	27	7	55
$\geq 1-10^2$	27	5	7	0	39
$\geq 10^2-10^3$	7	1	0	0	8
$\geq 10^3-10^4$	8	0	0	0	8
TOTAL	58	11	34	7	110

**Tabla 89. Recuento de coliformes fecales (NMP ufc/g) en las muestras frías de 2º plato.
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Muestras Frías de 2º Plato		
	Manipulados	Pescados	TOTAL
0	4	1	5
$\geq 1-10^2$	4	1	5
$\geq 10^2-10^3$	0	1	1
TOTAL	8	3	11

Del porcentaje del 20,6% de recuento positivo obtenido para coliformes fecales en las muestras de complementos de gestión directa es de destacar, que presentan valores en el intervalo $\geq 1-10^2$ NMP ufc/g (3 embutidos, 2 hortalizas crudas y 2 huevos) como se observa en la tabla 90.

Tabla 90. Recuento de coliformes fecales (NMP ufc/g) en las muestras frías de complementos. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras Frías de Complementos					TOTAL
	Embutidos	Hortalizas crudas	Huevos	Mojos	Salsas	
0	8	6	5	6	2	27
≥1- 10 ²	3	2	2	0	0	7
TOTAL	11	8	7	6	2	34

En los platos fríos se identifican 58 aislados de coliformes fecales. En 18 casos se identifica *Escherichia coli*, en 12 *Enterobacter aerogenes*, en 8 *Klebsiella ozaenae* y en 10 *Enterobacter cloacae*. Se identifican otras especies en menor porcentaje.

Las ensaladas es el grupo donde mayor número (44, 75,9%) de coliformes fecales se aísla, como se observa en la tabla 91.

Tabla 91. Identificación de coliformes fecales (NMP ufc/g) en las muestras frías. GESTIÓN DIRECTA.

Microorganismo	Muestras Frías			TOTAL
	Ensaladas	2º Plato	Complementos	
<i>Citrobacter freundii</i>	4	1	0	5
<i>Escherichia coli</i>	13	2	3	18
<i>Enterobacter aerogenes</i>	8	3	1	12
<i>Enterobacter agglomerans</i>	2	0	0	2
<i>Enterobacter cloacae</i>	7	1	2	10
<i>Enterobacter gorgoviae</i>	3	0	0	3
<i>Klebsiella ozaenae</i>	7	0	1	8
TOTAL	44	7	7	58

IV.1.4.2. Gestión contratada

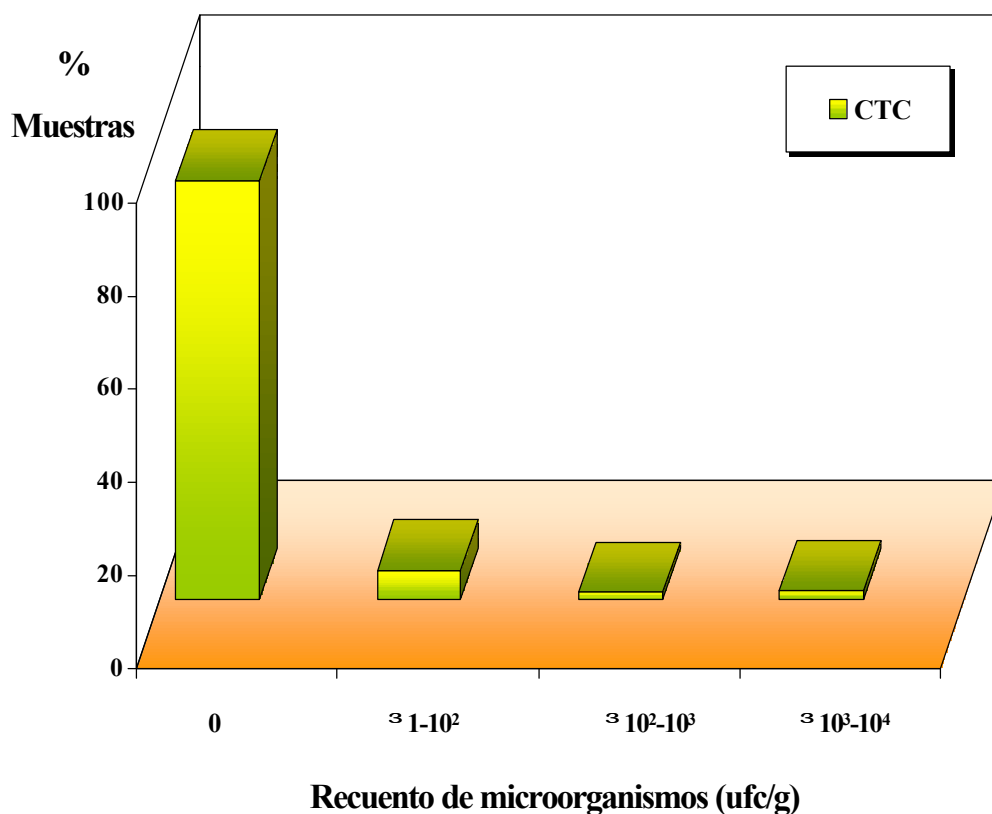
El porcentaje de muestras positivas en los alimentos servidos en comedores escolares de gestión contratada es de 9,8% según se refleja en la tabla 92.

En la gráfica 8 se representa mediante histogramas los datos correspondientes a la tabla ya mencionada.

**Tabla 92. Recuento de coliformes fecales (NMP ufc/g).
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Número de muestras	Porcentaje
0	328	90,1%
$\geq 1 - 10^2$	23	6,3%
$\geq 10^2 - 10^3$	6	1,6%
$\geq 10^3 - 10^4$	7	1,9%

**Gráfica 8 - GESTIÓN CONTRATADA
Coliformes fecales**



Resultados

°En la tabla 93, se refleja el recuento de coliformes fecales en muestras de gestión contratada según platos. Ningún primer plato ni postre presenta recuento para este parámetro. Con un bajo porcentaje de recuento positivo están los segundos platos (5,8%, 9 muestras) y los complementos (6,2%, 3 muestras). En cambio, las ensaladas presentan un 72,7% (24) de recuento positivo para coliformes fecales.

**Tabla 93. Recuento de coliformes fecales según platos (NMP ufc/g).
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Muestras					
	1 ^{er} Plato	Ensaladas	2 ^o Plato	Complementos	Postres	TOTAL
0	128	9	145	45	1	328
$\geq 1 - 10^2$	0	15	8	0	0	23
$\geq 10^2 - 10^3$	0	2	1	3	0	6
$\geq 10^3 - 10^4$	0	7	0	0	0	7
TOTAL	128	33	154	48	1	364

El 5,8% de segundos platos de gestión contratada con recuentos positivos para coliformes fecales se desglosa de la siguiente manera: 2 platos de manipulados (15,4%), 5 platos de carnes (11,9%) y 2 de pastas (8%), como se observa en la tabla 94.

Mientras que las muestras de complementos de gestión contratada que obtienen recuentos positivos son sólo tres, dos embutidos y una hortaliza cruda, que se sitúan en el intervalo $\geq 10^2 - 10^3$ NMP ufc/g (tabla 95).

**Tabla 94. Recuento de coliformes fecales (NMP ufc/g) en muestras de 2^o plato.
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Muestras de 2 ^o Plato							
	Carnes	Manipulados			Pastas	Pescados	Arroz	TOTAL
Croquetas		Tortillas	R					
0	37	6	13	11	23	34	21	145
$\geq 1 - 10^2$	4	0	0	2	2	0	0	8
$\geq 10^2 - 10^3$	1	0	0	0	0	0	0	1
TOTAL	42	6	13	13	25	34	21	154

**Tabla 95. Recuento de coliformes fecales (NMP ufc/g) en las muestras de complementos.
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Muestras de Complementos							TOTAL
	Embutidos	Hortalizas guisadas	Hortalizas crudas	Huevos	Mojos	Papas	Salsas	
0	2	2	0	1	11	21	8	45
$\geq 1 - 10^2$	0	0	0	0	0	0	0	0
$\geq 10^2 - 10^3$	2	0	1	0	0	0	0	3
TOTAL	4	2	1	1	11	21	8	48

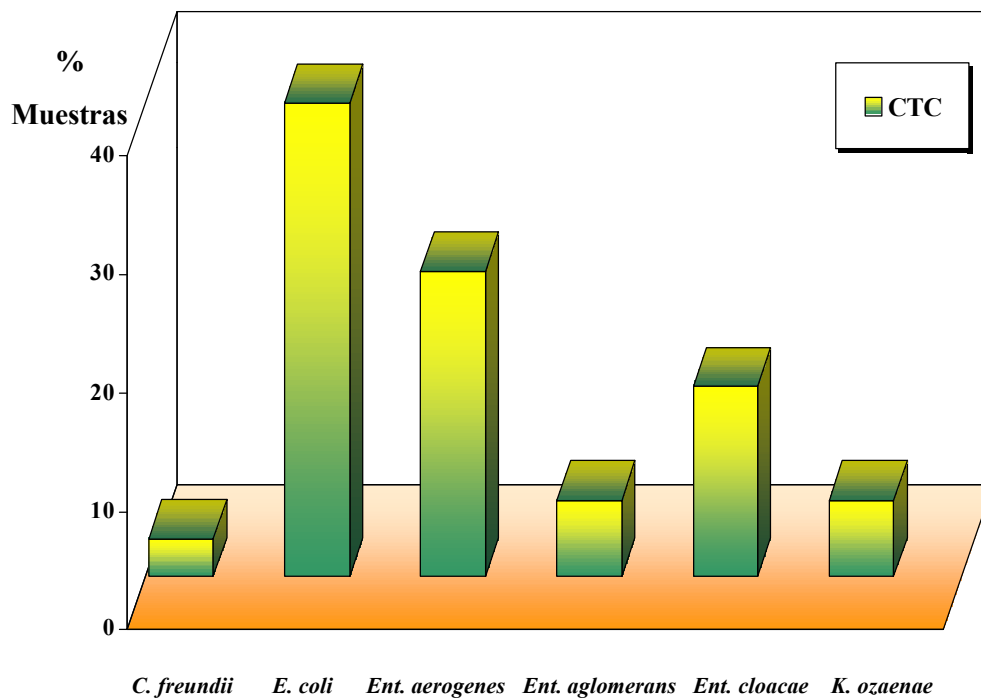
Las especies de coliformes fecales identificadas de platos con tratamiento completo se reflejan en la tabla 96 y gráfica 10. De los 31 identificados, 13 corresponden a *Escherichia coli* y 8 a *Enterobacter aerogenes*. Otras especies se identifican en menor porcentaje.

Se observa que el 71% de las especies de coliformes fecales corresponden a ensaladas (22).

**Tabla 96. Especies de coliformes fecales (NMP ufc/g).
GESTIÓN CONTRATADA.**

Microorganismo	Muestras			TOTAL
	Ensaladas	2° Plato	Complementos	
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0	0	1 (3,2%)
<i>Escherichia coli</i>	9	2	2	13 (41,9%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	3	2	8 (25,8%)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	2	0	0	2 (6,5%)
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	0	0	5 (16,1%)
<i>Klebsiella ozaenae</i>	2	0	0	2 (6,5%)
TOTAL	22	5	4	31 (100%)

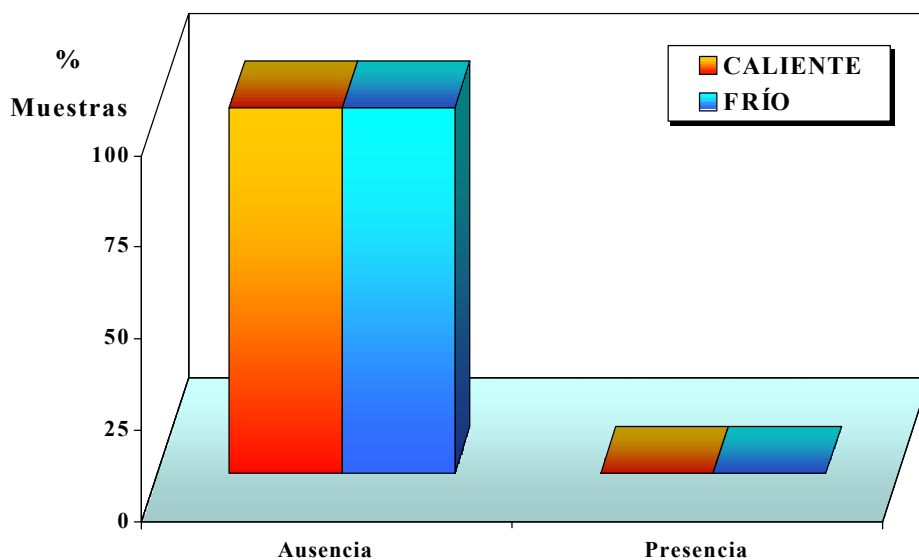
Gráfica 10 - GESTIÓN CONTRATADA
Tipos de coliformes fecales



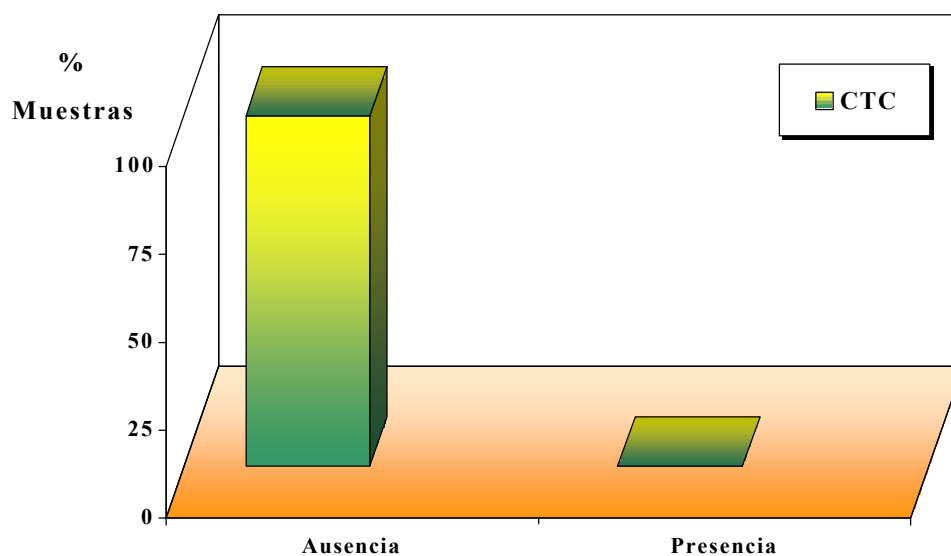
IV. 1. 5. *SALMONELLA SPP.*

Es importante destacar que en ninguna de las muestras analizadas se detecta la presencia del patógeno *Salmonella spp.*, como se aprecia en las gráficas 11 y 12.

Gráfica 11 - GESTIÓN DIRECTA
Salmonella spp.



Gráfica 12 - GESTIÓN CONTRATADA
Salmonella spp.



IV. 1. 6. *STAPHYLOCOCCUS SPP.*

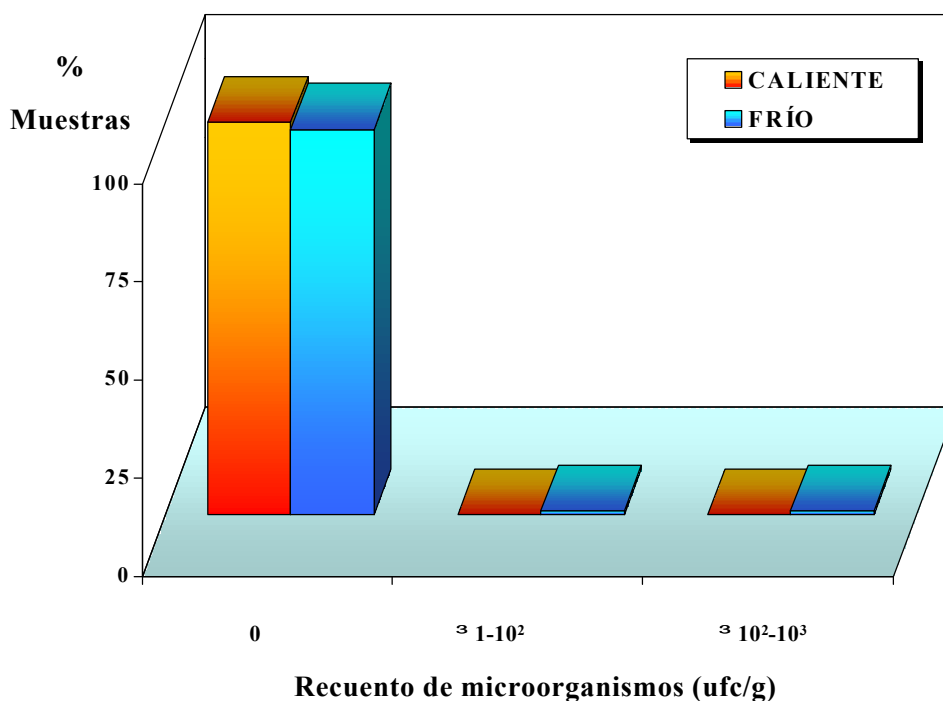
IV.1.6.1. Gestión directa

El recuento de *Staphylococcus spp./g* ha sido positivo en un 0,2% de las muestras calientes de comedores escolares de gestión directa y en un 1,8% de las muestras frías de los estos comedores como se observa en la tabla 97 y gráfica 13.

**Tabla 97. Recuento de *Staphylococcus spp* (ufc/g).
GESTIÓN DIRECTA.**

<i>Staphylococcus spp.</i>	Calientes (%)	Frías (%)
Ausencia	431(99,8%)	108 (98,2%)
Presencia	1 (0,2%)	2 (1,8%)

**Gráfica 13 - GESTIÓN DIRECTA
*Staphylococcus spp.***



Las tres muestras en las que se detecta este microorganismo corresponden a segundos platos, 1 muestra caliente (pollo) y 2 frías (picadillo de atún y ensaladilla).

IV.1.6.2. Gestión contratada

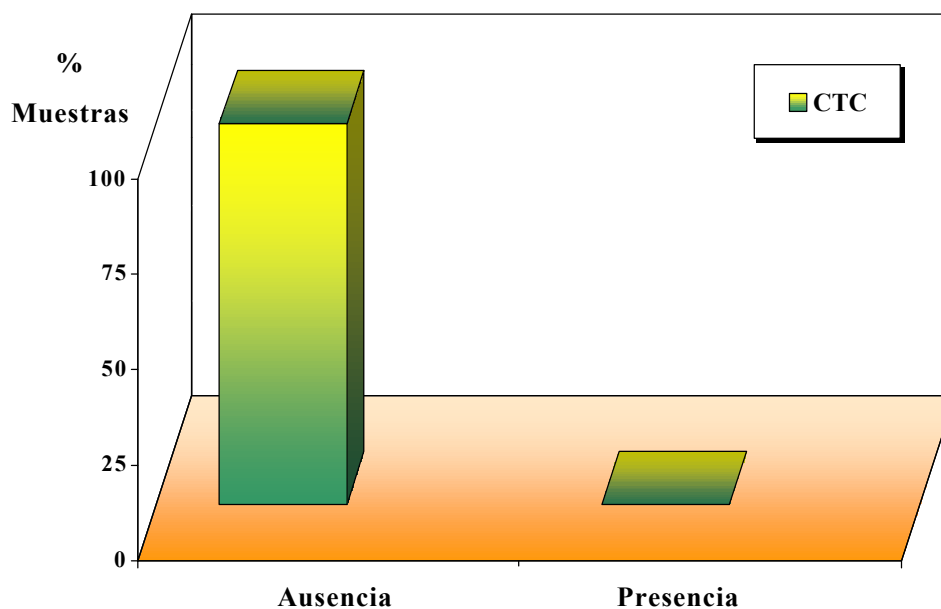
En las muestras de alimentos analizados de comedores de gestión contratada no se detecta la presencia de microorganismos de este género (tabla 98).

**Tabla 98. Recuento de *Staphylococcus spp* (ufc/g).
GESTIÓN CONTRATADA.**

<i>Staphylococcus spp.</i>	Muestras
Ausencia	364 (100,0%)
Presencia	0

En la gráfica 14 se representa mediante histogramas los datos correspondientes a la tabla ya mencionada.

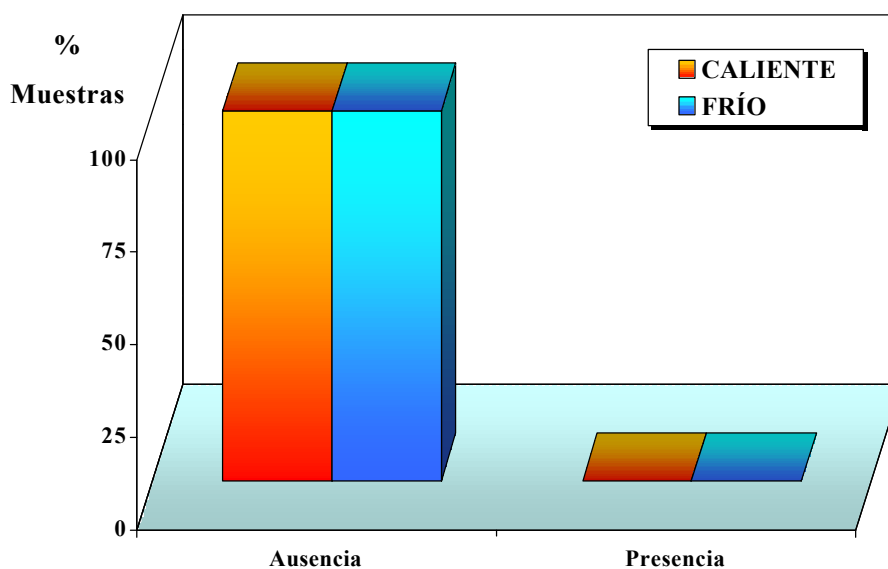
**Gráfica 14 - GESTIÓN CONTRATADA
*Staphylococcus spp.***



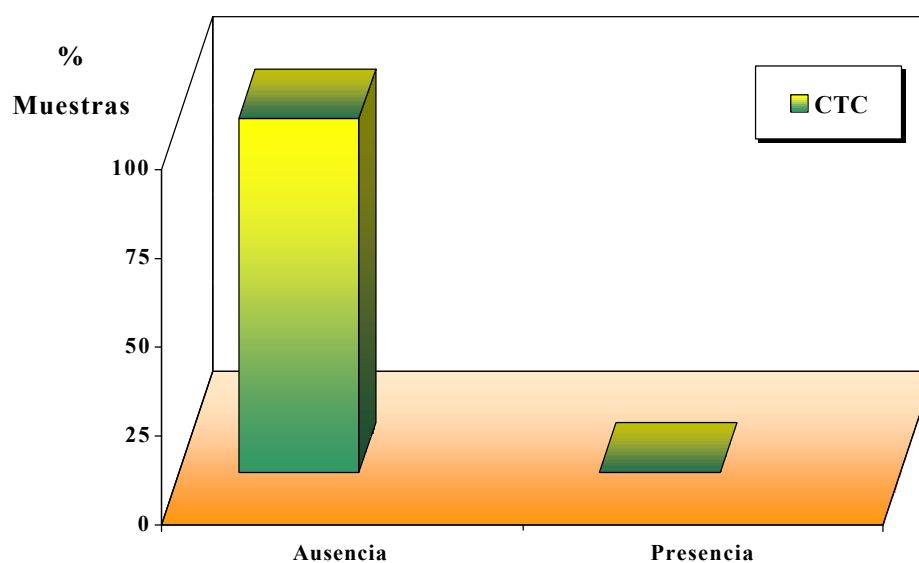
IV. 1. 7. CLOSTRIDIUM SPP.

No se detecta en ninguna de las muestras analizadas la presencia de *Clostridium spp.* Su representación queda reflejada en las gráficas 15 y 16.

Gráfica 15 - GESTIÓN DIRECTA
Clostridium spp.



Gráfica 16 - GESTIÓN CONTRATADA
Clostridium spp.



IV. 1. 8. *ENTEROCOCCUS SPP.*

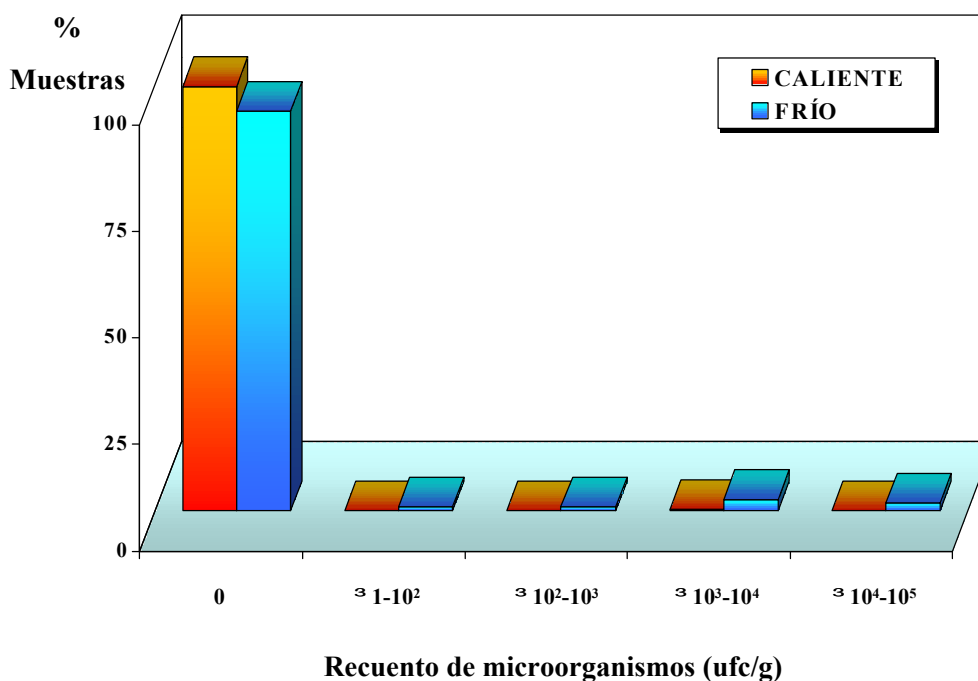
IV.1.8.1. Gestión directa

El recuento de *Enterococcus spp.* en los alimentos fríos y calientes servidos en comedores escolares de gestión directa, presentan resultados positivos en un 6,3% y 0,2% respectivamente, como podemos observar en la tabla 99. Su representación mediante histogramas se refleja en la gráfica 17.

**Tabla 99. Recuento de *Enterococcus spp* (ufc/g).
GESTIÓN DIRECTA.**

Intervalo	Calientes (%)	Frías (%)
0	431 (99,8%)	103 (93,6%)
$\geq 1 - 10^2$	0	1 (0,9%)
$\geq 10^2 - 10^3$	0	1 (0,9%)
$\geq 10^3 - 10^4$	0	3 (2,7%)
$\geq 10^4 - 10^5$	1 (0,2%)	2 (1,8%)

**Gráfica 17 - GESTIÓN DIRECTA
*Enterococcus spp.***



Resultados

El 8,6% de las muestras de ensalada (5 muestras de 58), el 1,4% de las de segundo plato (2 muestras de 217) y el 0,9% (1 de 71) de los complementos de gestión directa muestran recuentos positivos para *Enterococcus spp*, como se esquematiza en la tabla 100.

Tabla 100. Recuento de *Enterococcus spp* (ufc/g) según platos. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras					
	1 ^{er} Plato	Ensaladas	2 ^o Plato	Complementos	Postres	TOTAL
0	189	53	215	70	7	534
$\geq 1 - 10^2$	0	1	0	0	0	1
$\geq 10^2 - 10^3$	0	1	0	0	0	1
$\geq 10^3 - 10^4$	0	2	1	0	0	3
$\geq 10^4 - 10^5$	0	1	1	1	0	3
TOTAL	189	58	217	71	7	542

IV.1.8.1.1. Muestras calientes

Únicamente una muestra de segundo plato da recuento positivo para *Enterococcus spp* en las muestras calientes de gestión directa, que representa el 0,5% de muestras de segundo plato analizadas (tabla 101).

Tabla 101. Recuento de *Enterococcus spp* (ufc/g) en muestras calientes. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras calientes			
	1 ^{er} Plato	2 ^o Plato	Complementos	TOTAL
0	189	205	37	431
$\geq 1 - 10^2$	0	0	0	0
$\geq 10^2 - 10^3$	0	0	0	0
$\geq 10^3 - 10^4$	0	0	0	0
$\geq 10^4 - 10^5$	0	1	0	1
TOTAL	189	206	37	432

IV.1.8.1.2. Muestras frías

En las muestras de segundo plato, sólo un pulpo a la vinagreta, y un queso blanco, en los complementos obtienen recuento positivo para *Enterococcus spp* en muestras frías de gestión directa.

En las ensaladas el 8,6% de éstas (5 de 58) dan recuentos positivos para este parámetro (tabla 102).

Tabla 102. Recuento de *Enterococcus spp* (ufc/g) en muestras frías. GESTIÓN DIRECTA.

Intervalo	Muestras frías				
	Ensaladas	2º Plato	Complementos	Postres	TOTAL
0	53	10	33	7	103
$\geq 1 - 10^2$	1	0	0	0	1
$\geq 10^2 - 10^3$	1	0	0	0	1
$\geq 10^3 - 10^4$	2	1	0	0	3
$\geq 10^4 - 10^5$	1	0	1	0	2
TOTAL	58	11	34	7	110

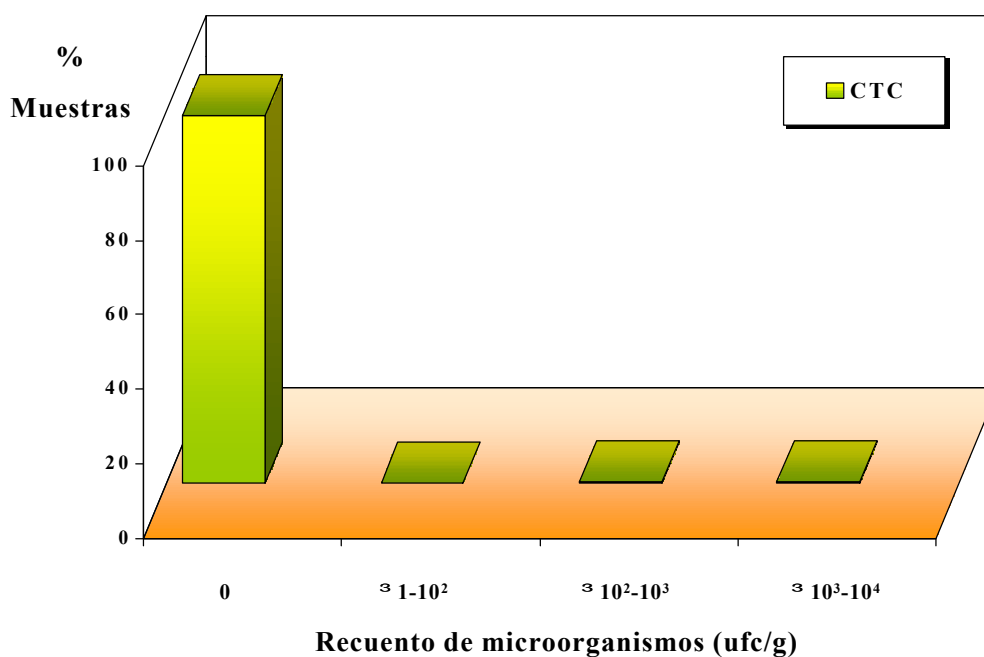
IV.1.8.2. Gestión contratada

Los alimentos con tratamiento completo servidos en comedores escolares de gestión contratada presentan un 1,1% de muestras positivas para este grupo de microorganismos, como se observa en la tabla 103 y en la gráfica 18.

**Tabla 103. Recuento de *Enterococcus spp* (ufc/g).
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Número de muestras	Porcentaje
0	360	98,9%
$\geq 1 - 10^2$	0	0
$\geq 10^2 - 10^3$	2	0,55%
$\geq 10^3 - 10^4$	2	0,55%

**Gráfica 18 - GESTIÓN CONTRATADA
*Enterococcus spp.***



En la tabla 104 se refleja el recuento de *Enterococcus spp* en las muestras, según platos, de los comedores de gestión contratada. Dos ensaladas muestran recuentos positivos con un 6%, un complemento (jamón) con un 2% y el 0,6% de los segundos platos por una muestra, salpicón de atún.

**Tabla 104. Recuento de *Enterococcus spp* (ufc/g) según platos.
GESTIÓN CONTRATADA.**

Intervalo	Muestras					TOTAL
	1 ^{er} Plato	Ensaladas	2 ^o Plato	Complementos	Postres	
0	128	31	153	47	1	360
$\geq 1 - 10^2$	0	0	0	0	0	0
$\geq 10^2 - 10^3$	0	0	1	1	0	2
$\geq 10^3 - 10^4$	0	2	0	0	0	2
TOTAL	128	33	154	48	1	364

IV.2. ANÁLISIS DE PELIGROS Y PUNTOS DE CONTROL CRÍTICO

Se realiza una ficha de inspección en 92 colegios, 55 de gestión directa y 37 de gestión contratada.

IV.2.1. Colegios de gestión directa

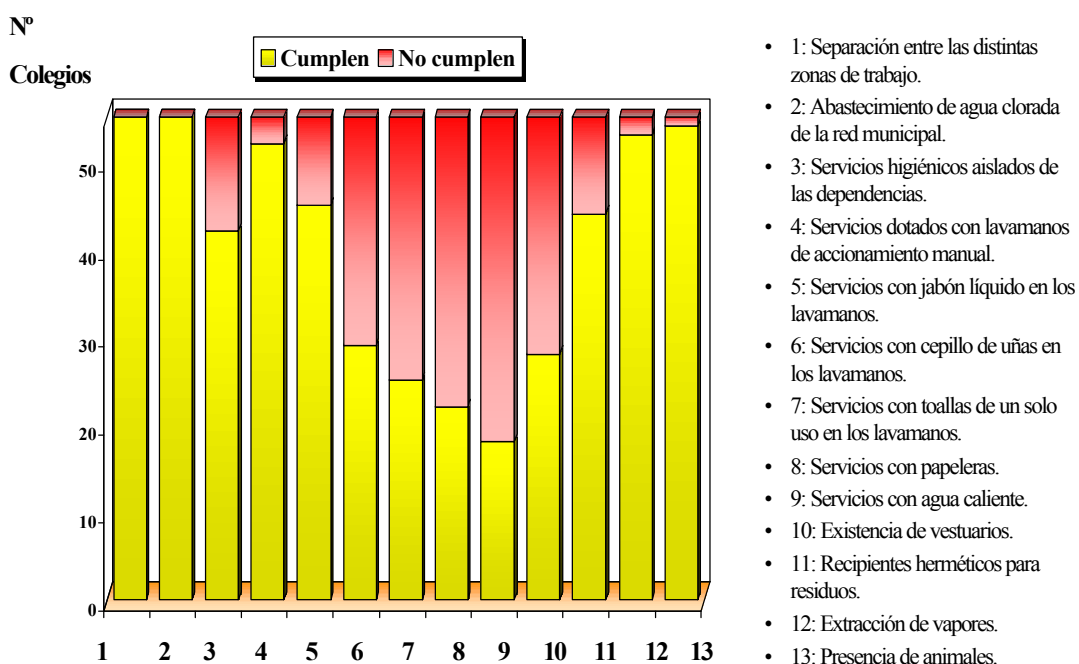
En los colegios de gestión directa (55) la mayor deficiencia en las características generales del establecimiento está en la falta de agua caliente (67,3%), en el uso de papeleras (60%) y toallas de un solo uso (54,5%) como se observa en la tabla 105 y gráfica 19.

**Tabla 105. Características generales del establecimiento.
GESTIÓN DIRECTA.**

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ESTABLECIMIENTO	SI	NO
• Existe separación entre las distintas zonas de trabajo	55 (100%)	0
• Abastecimiento de agua clorada de la red municipal	55 (100%)	0
• Existen servicios higiénicos aislados de las dependencias	42 (76,4%)	13 (23,6%)
• Están dotados de:		
1. lavamanos manual	52 (94,5%)	3 (5,5%)
2. jabón líquido	45 (81,8%)	10 (18,2%)
3. cepillo de uñas	29 (52,7%)	26 (47,3%)
4. toallas de un solo uso	25 (45,5%)	30 (54,5%)
5. papeleras	22 (40%)	33 (60%)
6. agua caliente	18 (32,7%)	37 (67,3%)
• Dispone de vestuarios	28 (50,9%)	27 (49,1%)
• Existen recipientes de cierre hermético para residuos sólidos y almacenados en lugar separado y evacuación diaria	44 (80%)	11 (20%)
• Dispone de servicios de extracción de vapores	53	2

	(96,4%)	(3,6%)
• Ausencia de animales domésticos en el establecimiento	1 (1,8%)	54 (98,2%)

Gráfica 19: GESTIÓN DIRECTA
Características generales del establecimiento

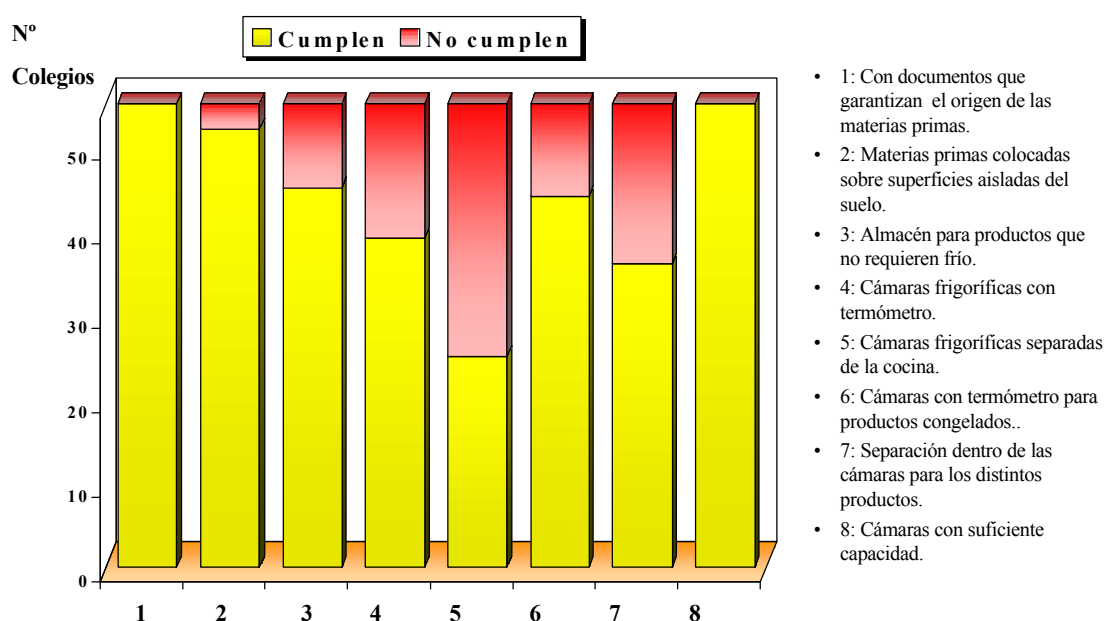


En la tabla 106 del almacenamiento de materias primas de colegios de gestión directa se observa como un 54,5% las cámaras no están separadas de la cocina ni dentro de éstas hay separación entre los distintos productos (34,5%) (gráfica 20).

**Tabla 106. Almacenamiento de materias primas.
GESTIÓN DIRECTA.**

ALMACENAMIENTO DE MATERIAS PRIMAS	SI	NO
• Poseen documentos que garanticen el origen de las materias primas	55 (100%)	0
• Las materias primas están colocadas sobre superficies aisladas del suelo	52 (94,5%)	3 (5,5%)
• Existe almacén para productos alimenticios que no requieran frío	45 (81,8%)	10 (18,2%)
• Disponen de cámaras frigoríficas con termómetro	39 (70,9%)	16 (29,1%)
• Cámaras frigoríficas separadas de la cocina	25 (45,5%)	30 (54,5%)
• Cámaras con termómetro para productos congelados	44 (80%)	11 (20%)
• Dentro de las cámaras, existe separación entre los distintos productos	36 (65,5%)	19 (34,5%)
• Cámaras con suficiente capacidad	55 (100%)	0

**Gráfica 20: GESTIÓN DIRECTA
Almacenamiento de materias primas**

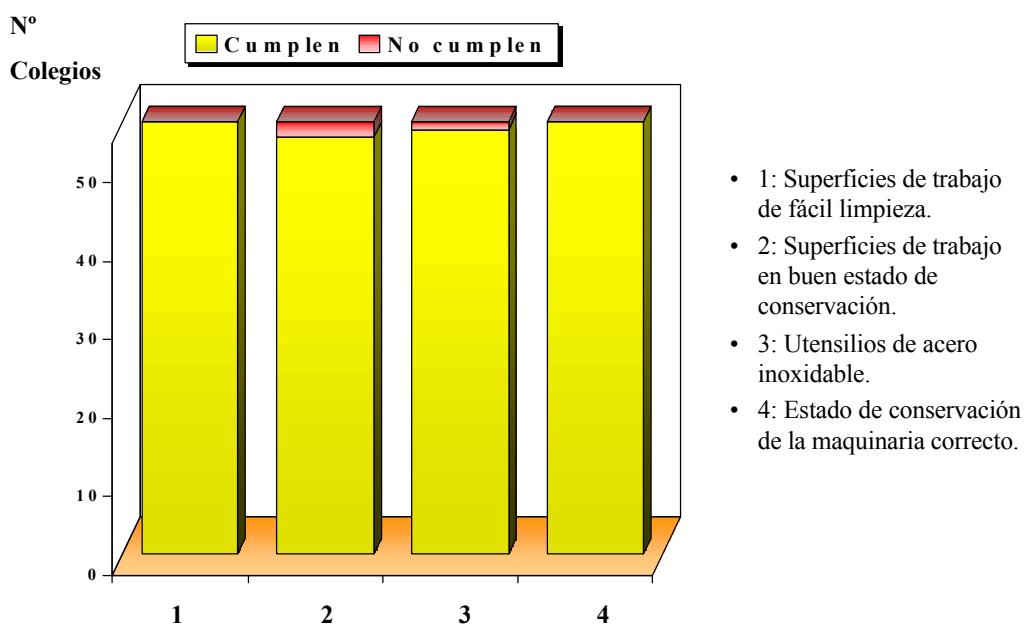


En los útiles y equipos de trabajo se refleja como en la mayoría de los casos son de fácil limpieza (100%), están en buen estado de conservación (96,4%), son de acero inoxidable (98,2%) y el estado de conservación es el correcto (100%) (tabla 107 y gráfica 21).

**Tabla 107. Equipos y útiles de trabajo.
GESTIÓN DIRECTA.**

EQUIPOS Y UTILES DE TRABAJO	SI	NO
• Las superficies de trabajo son de fácil limpieza	55 (100%)	0
• Las superficies de trabajo están en buen estado de conservación	53 (96,4%)	2 (3,6%)
• Las picadoras, cuchillos y demás utensilios son de acero inoxidable	54 (98,2%)	1 (1,8%)
• El estado de conservación de las maquinarias y utensilios es correcto	55 (100%)	0

**Gráfica 21: GESTIÓN DIRECTA
Equipos y útiles de trabajo**

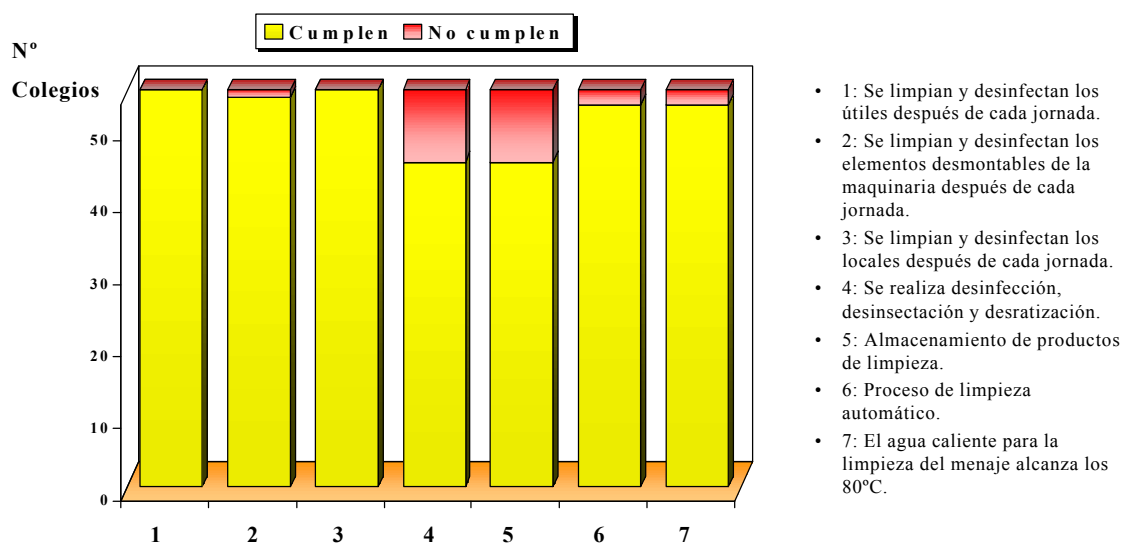


En la tabla 108 y gráfica 22 de las prácticas higiénicas en los colegios de gestión directa se observa como se realizan buenas prácticas higiénicas con un porcentaje de cumplimiento elevado $\geq 81,8\%$.

**Tabla 108. Prácticas higiénicas.
GESTIÓN DIRECTA.**

PRÁCTICAS HIGIÉNICAS	SI	NO
Después de cada jornada se limpian y desinfectan: • Los útiles	55 (100%)	0
• Los elementos desmontables de maquinaria	54 (98,2%)	1 (1,8%)
• Los locales	55 (100%)	0
• Se realiza desinfección, desinsectación y desratización	45 (81,8%)	10 (18,2%)
• Existe almacenamiento de productos de limpieza	45 (81,8%)	10 (18,2%)
• Proceso de limpieza automática	53 (96,4%)	2 (3,6%)
• El agua caliente para la limpieza del menaje está programada en la máquina para alcanzar los 80°C	53 (96,4%)	2 (3,6%)

**Gráfica 22: GESTIÓN DIRECTA
Prácticas higiénicas**

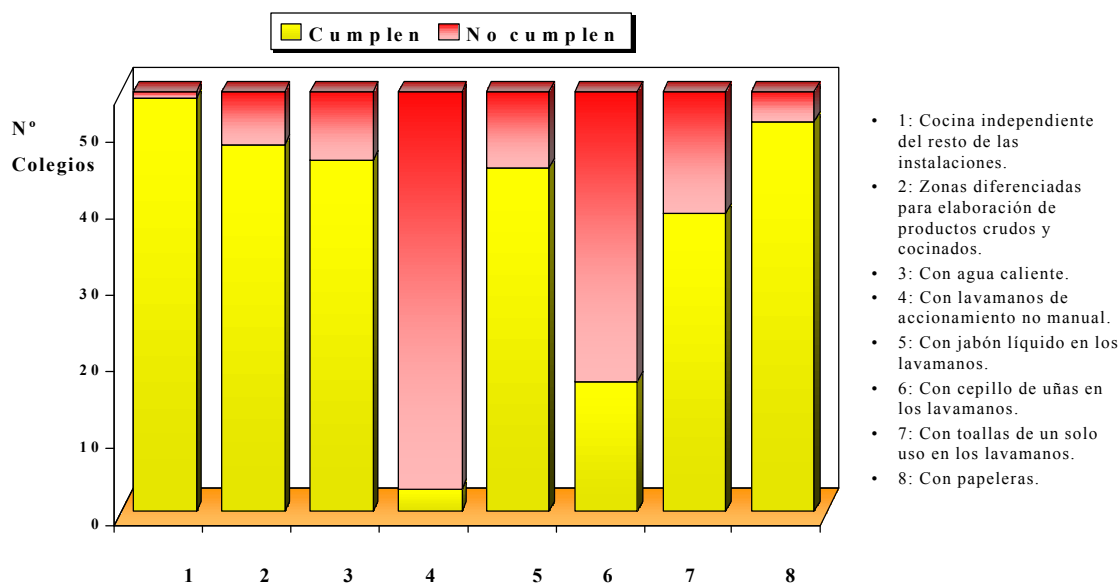


En el local para cocina de los colegios de gestión directa se observa como en sólo en un 5,5% de las cocinas existe lavamanos de accionamiento no manual y un 30,9% de ellas tienen cepillo de uñas para realizar un adecuado lavado de manos de los manipuladores (tabla 109 y gráfica 23).

**Tabla 109. Local para cocina.
GESTIÓN DIRECTA.**

LOCAL PARA COCINA	SI	NO
• La zona de la cocina es independiente del resto de instalaciones	54 (98,2%)	1 (1,8%)
• Existen zonas diferenciadas para la manipulación de productos crudos y elaborados	48 (87,3%)	7 (12,7%)
• Dispone de agua caliente	46 (83,6%)	9 (16,4%)
• Dispone de lavamanos de accionamiento no manual	3 (5,5%)	52 (94,5%)
• Posee los lavamanos jabón líquido	45 (81,8%)	10 (18,2%)
• Posee los lavamanos cepillos de uñas	17 (30,9%)	38 (69,1%)
• Dispone de toallas de un sólo uso	39 (70,9%)	16 (29,1%)
• Posee papeleras	51 (92,7%)	4 (7,3%)

**Gráfica 23: GESTIÓN DIRECTA
Local para cocina**



En la elaboración de comidas de colegios de gestión directa ninguno de ellos hace uso de ovoproductos biológicamente estabilizados para la elaboración de salsas u otros productos que lleven huevo y no precisen tratamiento térmico.

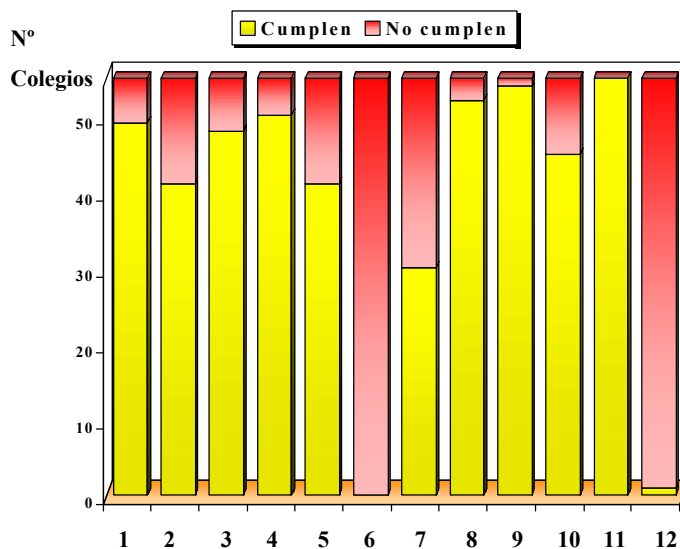
Sólo en un 1,8% los alimentos expuestos estaban protegidos por vitrinas.

En un 54,5% los alimentos de consumo en caliente se almacenan a temperaturas superiores a 70°C y en un 98,2% los alimentos de consumo en frío se almacenan a temperaturas inferiores a 3°C (tabla 110 y gráfica 24).

**Tabla 110. Elaboración de comidas.
GESTIÓN DIRECTA.**

ELABORACIÓN DE COMIDAS	SI	NO
• Uso de distintos aparatos y utensilios para productos crudos y cocinados	49 (89,1%)	6 (10,9%)
• Las verduras y hortalizas son lavadas de forma correcta	41 (74,5%)	14 (25,5%)
• La elaboración de cremas, mayonesas y natas se realizan con la mínima antelación	48 (87,3%)	7 (12,7%)
• Hasta su consumo se mantienen en refrigeración constante a $T^a \leq 3^{\circ}\text{C}$	50 (90,9%)	5 (9,1%)
• Se consumen antes de las 24 horas siguientes	41 (74,5%)	14 (25,5%)
• Se utilizan ovoproductos biológicamente estabilizados	0	55 (100%)
• En el centro de los productos que van a hacer almacenados en caliente la $T^a \geq 70^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de su consumo	30 (54,5%)	25 (45,5%)
• Se consumen antes de las 24 horas siguientes	52 (94,5%)	3 (5,5%)
• Las comidas refrigeradas se almacenan a T^a de conservación $\leq 3^{\circ}\text{C}$	54 (98,2%)	1 (1,8%)
• Se consumen antes de las 24 horas siguientes	45 (81,8%)	10 (18,2%)
• La conservación de comidas congeladas o ultracongeladas se realiza en cámaras a $T^a \geq -18^{\circ}\text{C}$	55 (100%)	0
• Los alimentos expuestos están protegidos por vitrinas	1 (1,8%)	54 (98,2%)

Gráfica 24: GESTIÓN DIRECTA
Elaboración de comidas



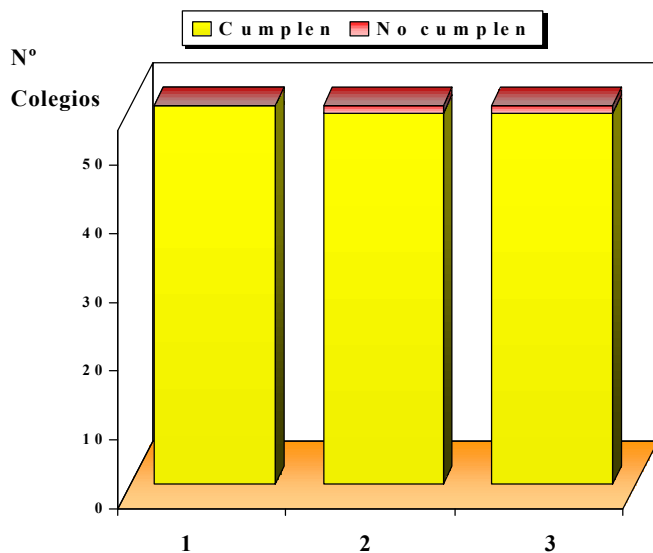
- 1: Uso de distintos aparatos y utensilios para productos crudos y cocinados.
- 2: Verduras y hortalizas lavadas de forma correcta.
- 3: Elaboración de cremas, mayonesas y natas con la mínima antelación.
- 4: Se mantienen hasta su consumo en refrigeración constante a $T^{\circ} \leq 3^{\circ}C$.
- 5: Se consumen antes de las 24 horas siguientes.
- 6: Se utilizan ovoproductos biológicamente estabilizados.
- 7: En el centro de los productos almacenados el caliente la $T^{\circ} \geq 70^{\circ}C$ hasta el momento de su consumo.
- 8: Se consumen antes de las 24 horas siguientes.
- 9: Las comidas refrigeradas se almacenan a T° de conservación $\geq 3^{\circ}C$.
- 10: Se consumen antes de las 24 horas siguientes.
- 11: La conservación de comidas congeladas se realiza en cámaras a $T^{\circ} \geq -18^{\circ}C$.
- 12: Los alimentos expuestos están protegidos por vitrinas.

En la tabla 111 y gráfica 25 de manipuladores de alimentos de gestión directa se refleja como en todos los casos se posee el carnet de manipulador y salvo en un colegio, todos los manipuladores utilizan indumentaria adecuada y de uso exclusivo.

Tabla 111. Manipuladores de alimentos.
GESTIÓN DIRECTA.

MANIPULADORES DE ALIMENTOS	SI	NO
• Poseen todos carnet de manipulador	55 (100%)	0
• Utilizan indumentaria adecuada	54 (98,2%)	1 (1,8%)
• Utilizan indumentaria adecuada de uso exclusivo	54 (98,2%)	1 (1,8%)

**Gráfica 25: GESTIÓN DIRECTA
Manipuladores de alimentos**



- 1: Poseen el carnet de manipulador.
- 2: Utilizan indumentaria adecuada.
- 3: Utilizan indumentaria adecuada de uso exclusivo.

IV.3.2. Colegios de gestión contratada

En los colegios de gestión contratada el almacenamiento de materias primas y la elaboración de comidas corre a cargo del catering contratado y al no tener acceso a los mismos no fue posible la realización de esta parte de la encuesta.

En los establecimientos de colegios de gestión contratada (37) sólo un 2,7% dispone de cepillo de uñas para un adecuado lavado de manos y un 16,2% de los casos se dispone de toallas de un solo uso para el secado de las mismas.

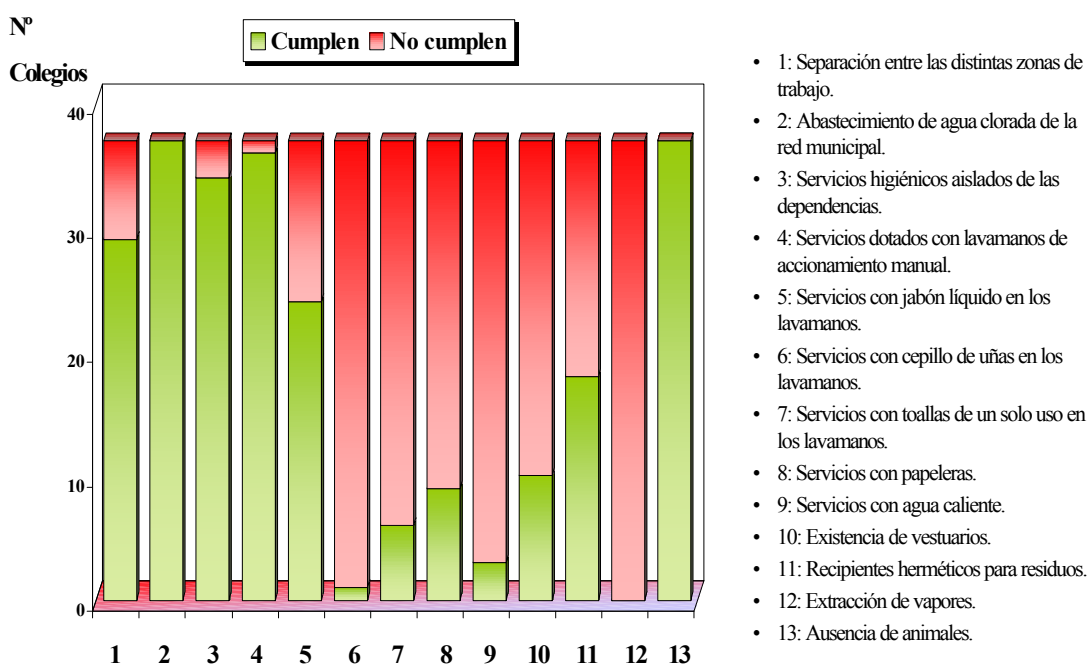
No disponen de vestuarios (73%) ni de campana de extracción de vapores (100%) (tabla 112 y gráfica 26).

**Tabla 112. Características generales del establecimiento.
GESTIÓN CONTRATADA.**

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ESTABLECIMIENTO	SI	NO
• Existe separación entre las distintas zonas de trabajo	29 (78,4%)	8 (21,6%)
• Abastecimiento de agua clorada de la red municipal	37 (100%)	0
• Existen servicios higiénicos aislados de las dependencias	34 (91,9%)	3 (8,1%)
• Están dotados de:		
7. lavamanos manual	36 (97,3%)	1 (2,7%)
8. jabón líquido	24 (64,9%)	13 (35,1%)
9. cepillo de uñas	1 (2,7%)	36 (97,3%)
10.toallas de un solo uso	6 (16,2%)	31 (83,8%)
11.papeleras	9 (24,3%)	28 (75,7%)
12.agua caliente	3 (8,1%)	34 (91,9%)
• Dispone de vestuarios	10 (27,0%)	27 (73%)
• Existen recipientes de cierre hermético para residuos sólidos y almacenados en lugar separado y evacuación diaria	18 (48,6%)	19 (51,4%)

• Dispone de servicios de extracción de vapores	0	37 (100%)
• Ausencia de animales domésticos en el establecimiento	37 (100%)	0

Gráfica 26: GESTIÓN CONTRATADA
Características generales del establecimiento

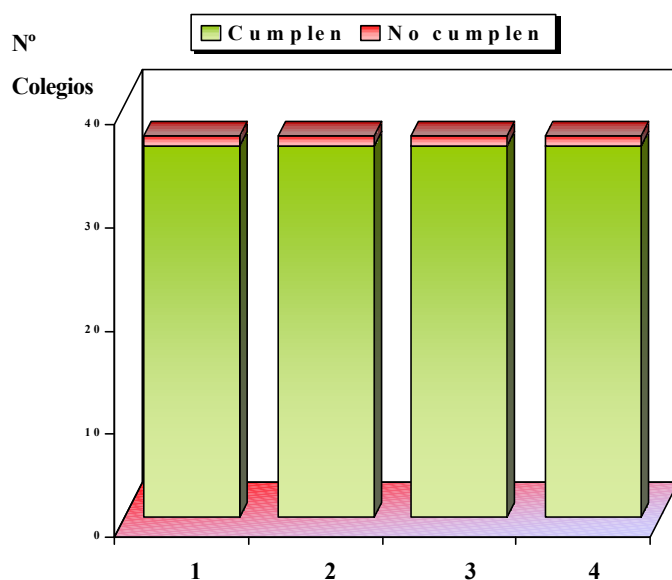


En la mayoría de los casos (97,3%), los equipos y útiles de trabajo de colegios de gestión contratada son de fácil limpieza, están en buen estado de conservación y son de acero inoxidable (tabla 113 y gráfica 27).

**Tabla 113. Equipos y útiles de trabajo.
GESTIÓN CONTRATADA.**

EQUIPOS Y UTILES DE TRABAJO	SI	NO
• Las superficies de trabajo son de fácil limpieza	36 (97,3%)	1 (2,7%)
• Las superficies de trabajo están en buen estado de conservación	36 (97,3%)	1 (2,7%)
• Las picadoras, cuchillos y demás utensilios son de acero inoxidable	36 (97,3%)	1 (2,7%)
• El estado de conservación de las maquinarias y utensilios es correcto	36 (97,3%)	1 (2,7%)

**Gráfica 27: GESTIÓN CONTRATADA
Equipos y útiles de trabajo**



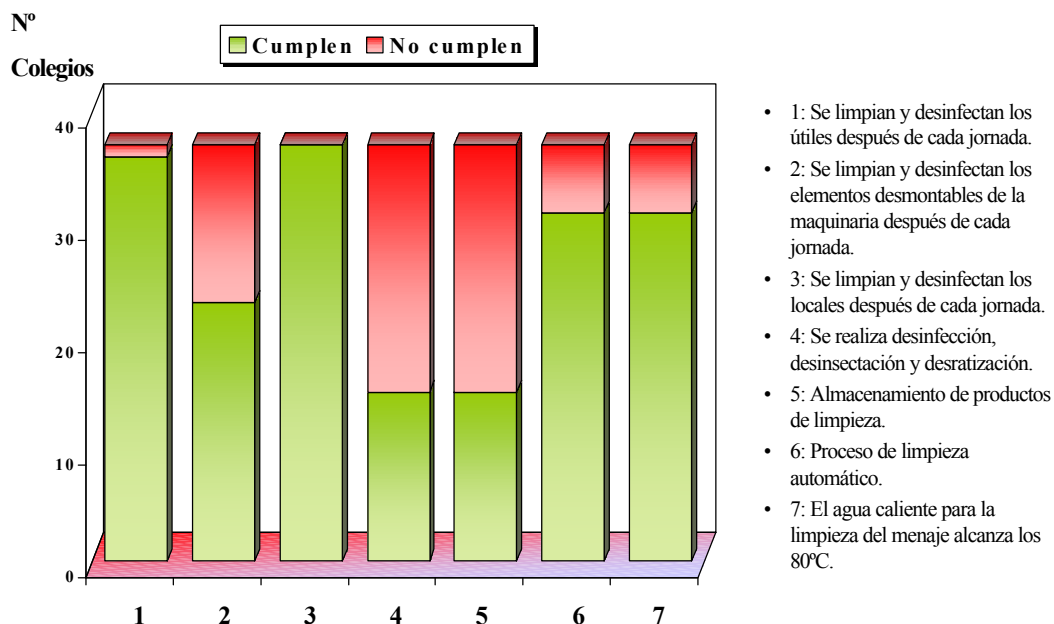
- 1: Superficies de trabajo de fácil limpieza.
- 2: Superficies de trabajo en buen estado de conservación.
- 3: Utensilios de acero inoxidable.
- 4: Estado de conservación de la maquinaria correcto.

En los colegios de gestión contratada la desinfección, desinsectación y desratización sólo se realiza en un 40,5% de ellos, al igual que el almacenamiento de productos de limpieza (tabla 114 y gráfica 28).

**Tabla 114. Prácticas higiénicas.
GESTIÓN CONTRATADA.**

PRÁCTICAS HIGIÉNICAS	SI	NO
Después de cada jornada se limpian y desinfectan:		
• Los útiles	36 (97,3%)	1 (2,7%)
• Los elementos desmontables de maquinaria	23 (62,2%)	14 (37,8%)
• Los locales	37 (100%)	0
• Se realiza desinfección, desinsectación y desratización	15 (40,5%)	22 (59,5%)
• Existe almacenamiento de productos de limpieza	15 (40,5%)	22 (59,5%)
• Proceso de limpieza automática	31 (83,8%)	6 (16,2%)
• El agua caliente para la limpieza del menaje está programada en la máquina para alcanzar los 80°C	31 (83,8%)	6 (16,2%)

**Gráfica 28: GESTIÓN CONTRATADA
Prácticas higiénicas**

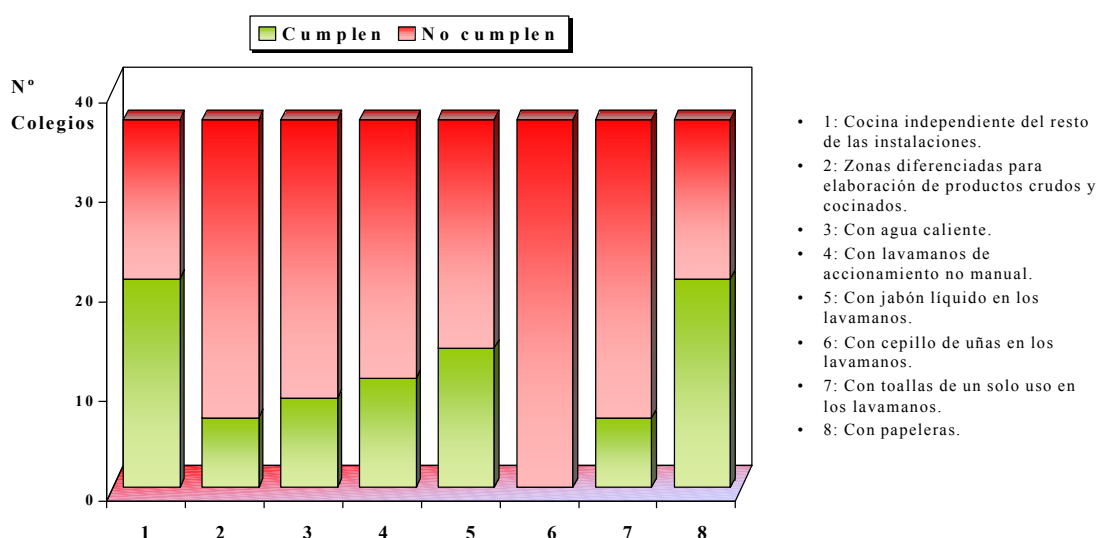


En ningún local para cocina de los colegios de gestión contratada se dispone de cepillo de uñas para realizar un adecuado lavado de manos de los manipuladores y en sólo un 18,9% hay toallas de un solo uso. Un 24,3% tiene agua caliente (tabla 115 y gráfica 29).

**Tabla 115. Local para comedor.
GESTIÓN CONTRATADA.**

LOCAL PARA COMEDOR	SI	NO
• La zona de la cocina es independiente del resto de instalaciones	21 (56,8%)	16 (43,2%)
• Existen zonas diferenciadas para la manipulación de productos crudos y elaborados	7 (18,9%)	30 (81,1%)
• Dispone de agua caliente	9 (24,3%)	28 (75,7%)
• Dispone de lavamanos de accionamiento no manual	11 (29,7%)	26 (70,3%)
• Posee los lavamanos jabón líquido	14 (37,8%)	23 (62,2%)
• Posee los lavamanos cepillos de uñas	0	37 (100%)
• Dispone de toallas de un sólo uso	7 (18,9%)	30 (81,1%)
• Posee papeleras	21 (56,8%)	16 (43,2%)

**Gráfica 29: GESTIÓN CONTRATADA
Local para cocina**

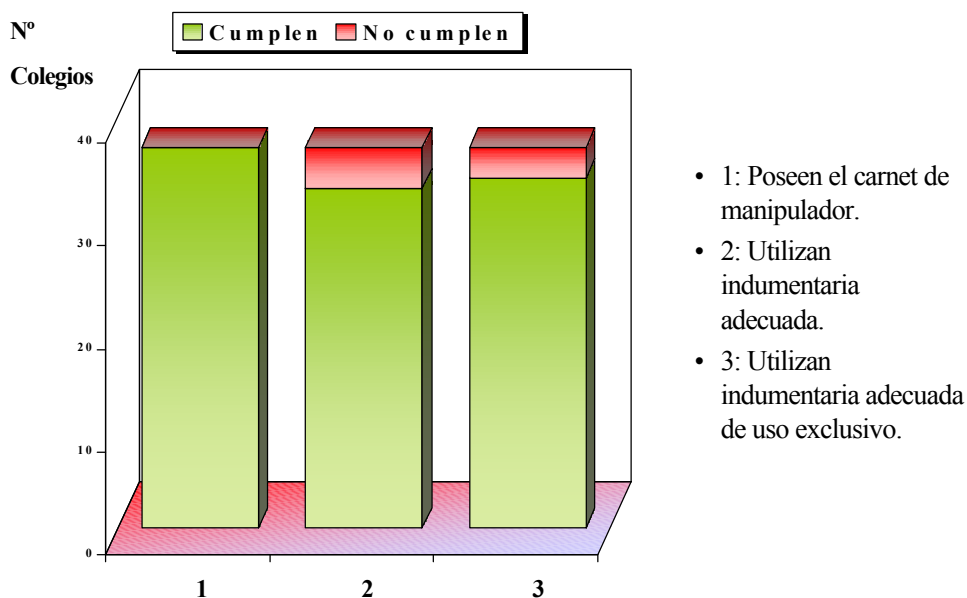


Todos los manipuladores de alimentos de colegios de gestión contratada poseen el carnet de manipulador aunque un 8,1% no utilizan la indumentaria adecuada y exclusiva para el lugar de trabajo (tabla 116 y gráfica 30).

**Tabla 116. Manipuladores de alimentos.
GESTIÓN CONTRATADA.**

MANIPULADORES DE ALIMENTOS	SI	NO
• Poseen todos carnet de manipulador	37 (100%)	0
• Utilizan indumentaria adecuada	33 (89,2%)	4 (10,8%)
• Utilizan indumentaria adecuada de uso exclusivo	34 (91,9%)	3 (8,1%)

**Gráfica 30: GESTIÓN CONTRATADA
Manipuladores de alimentos**



IV.2. ESTUDIO NUTRICIONAL

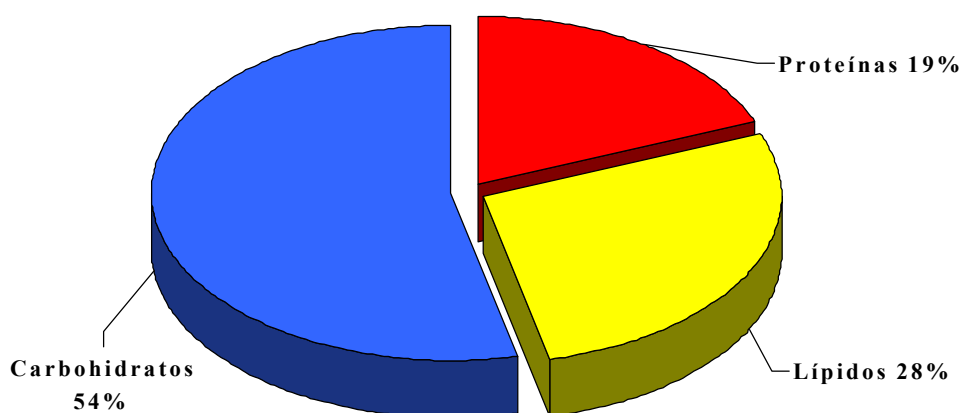
En la tabla 105 se refleja la ingestión media de los principios inmediatos de los 52 menús recogidos de almuerzos de los comedores escolares. La ingesta media de energía es de 706,02 Kcal con una desviación estándar de $\pm 281,19$.

La distribución de la ración energética consumida en el comedor escolar se observa en la tabla 117 y gráfica 31, donde las proteínas representan el 19,11%, los lípidos el 27,67% y los carbohidratos el 53,85%.

Tabla 117. Media de principios inmediatos y energía.

Principios inmediatos y energía	Media \pm Desviación estándar
Proteínas (%)	19,11 \pm 7,80
Lípidos (%)	27,67 \pm 10,10
Carbohidratos (%)	53,85 \pm 11,51
ENERGÍA (Kcal)	706,02 \pm 281,19

Gráfica 31 - Principios inmediatos (%)



El contenido medio y desviación estándar del colesterol son $77,53 \pm 64,30$ mg. Los aportes de colesterol por 1.000 Kcal expresa una ingesta media de 109 mg/1.000 kcal.

La estructura de la ración lipídica la encabeza los ácidos grasos monoinsaturados con 5,38 g seguido de los ácidos poliinsaturados con 4,46 g y en último lugar, los ácidos grasos saturados con 3,96 g.

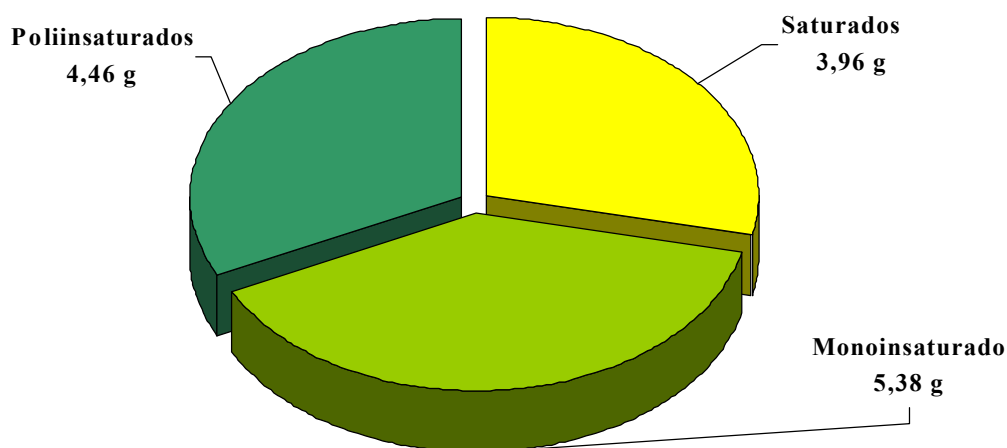
Los ácidos grasos saturados contribuyen en un 8,6% a la ingesta calórica, los ácidos grasos monoinsaturados con un 11,7% y los poliinsaturados con un 9,7%.

Los ácidos grasos de los menús de almuerzos de los comedores escolares se expresan la tabla 118 y en la gráfica 32.

Tabla 118. Media de colesterol y ácidos grasos.

Colesterol y ácidos grasos	Media \pm Desviación estándar
Colesterol (mg)	$77,53 \pm 64,30$
Ácidos grasos (g):	
• Saturados	$3,96 \pm 3,21$
• Monoinsaturados	$5,38 \pm 3,66$
• Poliinsaturados	$4,46 \pm 4,04$
• EPA	$0,02 \pm 0,04$
• DHA	$0,04 \pm 0,08$

Gráfica 32 - Ácidos grasos (g)



En la tabla 119 se muestran la ingestión media de fibra, vitaminas y minerales. En las vitaminas destacamos parte de las liposolubles (D, E y A) y en los minerales el sodio, potasio, yodo, calcio, hierro y zinc.

Para la fibra se han estimado unos aportes medios que oscilan en $8,01 \pm 3,87$ g. La ingesta de fibra por 1.000 kcal se sitúa en 11 g/1.000 kcal.

Las ingestas medias de vitamina D, E y A en el comedor escolar se sitúan en 0,71 μ g, 2,38 mg y 875,36 mg, respectivamente.

Los aportes medios de sodio están en 461,58 mg y los de potasio en 1065,76 mg.

El yodo está presente en los menús escolares en una cantidad media de 11,23 μ g. El calcio se sitúa en 199,28 mg, el hierro en 5,72 mg y el zinc en 3,61 mg.

Tabla 119. Media de fibra, vitaminas y minerales.

Nutrientes	Media \pm Desviación estándar
Fibra (g)	8,01 \pm 3,87
Vitaminas:	
• Vitamina D (μ g)	0,71 \pm 1,73
• Vitamina E (mg)	2,38 \pm 2,59
• Vitamina A (μ g)	875,36 \pm 656,71
Minerales:	
• Sodio (mg)	461,58 \pm 434,68
• Potasio (mg)	1065,76 \pm 415,96
• Yodo (μ g)	11,23 \pm 7,88
• Calcio (mg)	199,28 \pm 106,23
• Hierro (mg)	5,72 \pm 3,13
• Zinc (mg)	3,61 \pm 2,60

DISCUSIÓN

V.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Para determinar si las muestras analizadas están dentro de los límites establecidos nos hemos basado en dos reglamentaciones:

- El RD 2817/1983, de 13 de octubre, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria de los comedores colectivos. (BOE del 11-11-83). Correcciones en el RD 1333/1984, de 6 de junio (BOE nº167, de 13 de julio de 1984) para alimentos de gestión directa (en la propia cocina del establecimiento), y se diferencian entre alimentos calientes o fríos (tabla 120).
- La Orden de 21 de febrero de 1977 sobre normas higiénico-sanitarias para la instalación y funcionamiento de industrias dedicadas a la preparación y distribución de comidas para consumo en colectividades y medios de transporte. (BOE nº59, 10 de marzo de 1977). Corrección de errores en los BOE de 14 y 27 de mayo de 1977 para platos preparados de gestión contratada, elaborados en cocina central (catering) donde se hace la diferenciación entre los alimentos con tratamiento culinario y sin él.

Tabla 120. Límites microbiológicos para los distintos microorganismos en los alimentos según el tipo de gestión de los comedores escolares.

<i>Microorganismos</i>	GESTIÓN DIRECTA		GESTIÓN CONTRATADA
	<i>Comidas Calientes</i>	<i>Comidas Frías</i>	<i>Comidas con Tratamiento Culinario</i>
Aerobios mesófilos totales	10 ³ ufc/g	10 ⁵ ufc/g	10 ⁴ ufc/g
<i>Enterobacteriaceae</i> totales	Ausencia/g	10 ² ufc/g	10 ufc/g
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia/g	10 ufc/g	Ausencia/g
<i>Salmonella</i>	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/50g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia/g	10 ufc/g	50 ufc/g
<i>Enterococcus spp.</i>	---	---	10 ² ufc/g
<i>Clostridium perfringens</i>	Ausencia/g	Ausencia/g	50 ufc/g

V.1.1. TOTAL DE MUESTRAS ANALIZADAS

En la tabla 121 y en las gráficas 33 y 34 se refleja el porcentaje de muestras que superan los límites para los distintos microorganismos teniendo en cuenta los tipos de gestión y dentro de ésta los tipos de comidas (calientes, frías y con tratamiento completo).

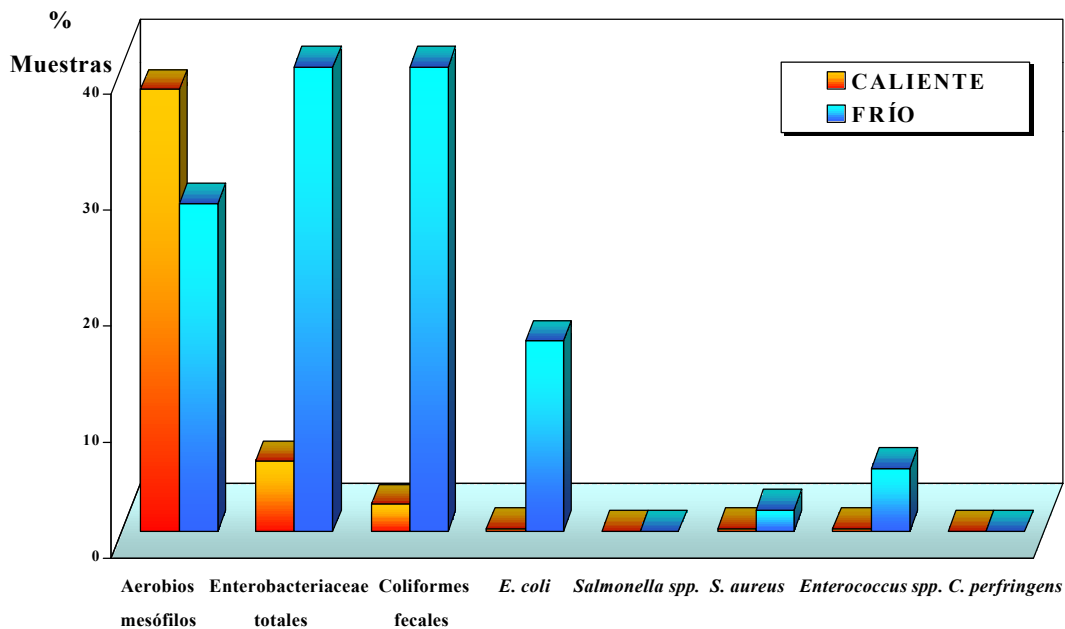
Se observa que el límite microbiológico que supera un mayor número de muestras es el de aerobios mesófilos totales, seguido de *Enterobacteriaceae* totales y *E. coli*. En ninguna muestra se detectó la presencia de *Salmonella spp.* y *Clostridium perfringens*.

Junto a la determinación de *E. coli*, hemos realizado el recuento de coliformes fecales y, al no existir límite microbiológico para este parámetro, hemos considerado el límite para el recuento de *E. coli*.

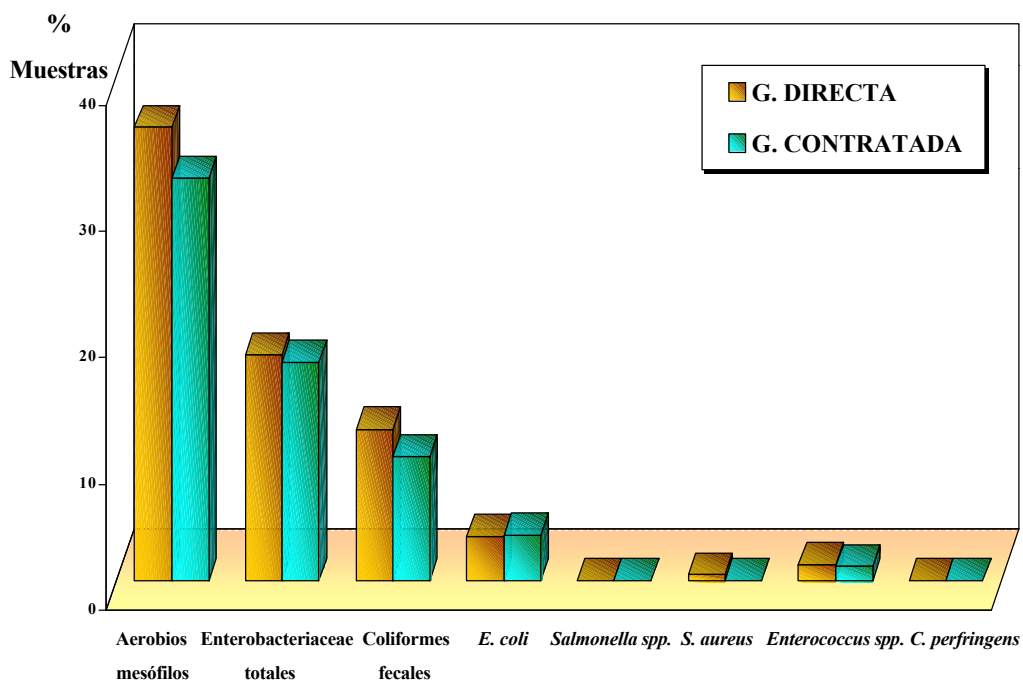
Tabla 121. Total de muestras analizadas.

MICROORGANISMOS	GESTIÓN DIRECTA			GESTIÓN CONTRATADA
	<i>Comidas Calientes No aptas</i>	<i>Comidas Frías No aptas</i>	<i>Comidas No aptas</i>	<i>Comidas con Tratamiento Culinario No aptas</i>
Aerobios mesófilos totales	164 (37,9%)	31 (28,2%)	195 (35,9%)	116 (31,9%)
<i>Enterobacteriaceae</i> totales	26 (6,0%)	71 (64,5%)	97 (17,9%)	63 (17,3%)
<i>Coliformes fecales</i>	10 (2,3%)	55 (50%)	65 (12%)	36 (9,8%)
<i>Escherichia coli</i>	1 (0,23%)	18 (16,4%)	19 (3,5%)	13 (3,6%)
<i>Salmonella spp.</i>	0%	0%	0%	0%
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 (0,2%)	2 (1,8%)	3 (0,5%)	0%
<i>Enterococcus spp</i>	1 (0,2%)	6 (5,4%)	7 (1,3%)	4 (1,1%)
<i>Clostridium perfringens</i>	0%	0%	0%	0%

Gráfica 33 - GESTIÓN DIRECTA
Muestras no aptas



Gráfica 34
Muestras no aptas



Hemos encontrado escasa bibliografía sobre análisis microbiológico de comidas servidas en comedores escolares.

Moreno y colaboradores (1996) de 56 muestras de comidas de consumo en caliente recogidas de colegios y guarderías, 14 (25%) incumplen algún parámetro y en el caso de las comidas que se consumen frías, de 17 muestras, 10 (58,8%) incumplen la normativa, por lo que el porcentaje de incumplimiento en comidas frías es el doble que en calientes.

Pérez-Silva y colaboradores (1998) en un estudio realizado a 44 comedores de alto riesgo (comedores que atienden población susceptible como niños y ancianos) analizan 49 muestras de alimentos con un resultado de 61,2% de muestras que incumplen algún parámetro frente a un 38,8% que no lo hacen.

Torre y cols. (1998) en el análisis de la calidad microbiológica de platos elaborados en establecimientos de restauración colectiva encuentra que un 38,2% de las muestras tiene uno o varios parámetros microbiológicos superiores a lo normal, con altos recuentos de aerobios mesófilos totales y enterobacterias.

En el estudio de Jurado-Pérez y cols (1999) el 41,3% de las muestras de consumo en frío incumplen la normativa en algún parámetro y el 34,8% de las de consumo en caliente. En este estudio también se pone de manifiesto las diferencias significativas existentes respecto a la calidad microbiológica de los distintos tipos de establecimientos como un 22,22% de muestras recogidas en residencias de ancianos, comedores escolares y de empresa incumplen la normativa vigente frente a un 50% de muestras recogidas de restaurantes y 47,06% de muestras recogidas de bares, tabernas y cafeterías.

Irigoyen y colaboradores (1992) estudia la situación higiénica de 24 comedores colectivos, 12 de elaboración propia y los restantes recibían las comidas de una cocina central. El 4% de las comidas calientes y el 40% de las de consumo en frío resultaron no aptas para el consumo por rebasar algún criterio microbiológico establecido por la legislación.

En un estudio de Massa e Izquierdo (1994) encuentran en un análisis de 476 muestras de tapas recogidas en bares y restaurantes, un 62% de incumplimiento para algunos de los parámetros legislados donde el porcentaje es similar en las muestras que se consumen en frío (62,4%) y en las que se consumen en caliente (63,4%). Se

observa un elevado número de enterobacterias en productos a consumir en frío (76,2%), valor superior al nuestro. Es de destacar que en dicho trabajo mencionan el crecimiento de microorganismos potencialmente patógenos (*E. coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus spp.* y *Clostridium perfringens*) en 49 muestras (10,3%). También refieren que el mayor grado de incumplimiento se observa en el grupo de ovoproductos (76%), seguido del de verduras (70,9%) y de los de carne y pescado (56,7% y 57,3%, respectivamente).

Arranz y cols (1995) en el análisis de 61 muestras de tapas recogidas de bares de Castellón, el 80% de las muestras analizadas supera en algún parámetro los límites de la legislación, si bien sólo en el 19% del total se encontraron microorganismos que representan un riesgo potencial para la salud. No se observaron diferencias entre las comidas consumidas en frío y en caliente.

V.1.2. AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES

V.1.2.1. Muestras con aerobios mesófilos totales según el tipo de gestión.

El porcentaje de muestras que superan los límites para aerobios mesófilos totales en el total de muestras de gestión directa es de un 35,9% frente a un 31,9% en muestras de gestión contratada. Para analizar si existen diferencias significativas de incumplimiento entre los dos tipos de gestión se aplica las tablas de contingencia 2x2, donde se obtiene un valor p de 0,2278464, superior al nivel de significación establecido ($p < 0,05$) por lo que no se encuentran diferencias significativas para este parámetro según el tipo de gestión como se observa en la tabla 122.

Tabla 122. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de gestión directa y en muestras de gestión contratada.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	195	347	$\chi^2 = 1,45$ $p = 0,2278464$
Gestión contratada	116	248	

En el estudio de Pérez-Silva (1998) realizado en 44 colegios (90 muestras ensayadas) se encuentra que en un 48,9% se superan los límites para aerobios mesófilos, valor superior al nuestro. Mientras que Jurado-Pérez y cols. (1999) en un estudio realizado en comedores colectivos encuentra que un 22,7% de las muestras presentan recuentos superiores al límite establecido para aerobios mesófilos, valor inferior al nuestro.

Mouffok y cols. (1992) respecto a la calidad bacteriológica de los platos servidos en restauración colectiva encuentran que el 40% de las muestras analizadas superan el umbral de aceptabilidad para los organismos mesófilos totales.

Reguera y cols. (1993) afirma que la presencia de contenedores de basura dentro de las áreas de trabajo acarrea un aumento de la flora aerobia mesófila.

En el estudio de Agostini y cols (1997), la calidad microbiológica final de comidas servidas en 71 locales de la ciudad de Buenos Aires, son insatisfactorias en un 19,5% de las 133 muestras de comida analizadas, principalmente por recuentos excesivos de bacterias aerobias mesófilas.

V.1.2.2. Muestras con aerobios mesófilos totales por platos según el tipo de gestión.

Las muestras de primer plato según el tipo de gestión se comparan mediante tablas de contingencia 2x2 y se obtiene una $p=0,2828246$, superior al nivel de significación establecido ($p<0,05$), por lo que no hay diferencias significativas (tabla 123).

Tabla 123. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de primer plato según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	59	130	$\chi^2 = 1,15$ $p=0,2828246$
Gestión contratada	32	96	

Sin embargo, si comparamos las muestras de ensaladas y segundos platos según gestión se obtiene en ambos casos diferencias significativas (tablas 124 y 125).

Tabla 124. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de ensaladas según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	19	39	$\chi^2 = 5,57$ $p= 0,0182540$
Gestión contratada	20	13	

En las ensaladas de gestión contratada es donde mayor porcentaje (60,6%) de no aptas se obtiene, en contraposición a las de gestión directa (32,7%), esto se puede relacionar con el hecho de que las muestras de ensaladas de gestión contratada en el catering se preparan en grandes cantidades lo que puede favorecer un lavado incorrecto de sus ingredientes.

En los segundos platos (tabla 125), las muestras de gestión directa superan los límites en un 43,8%(95 de 217) frente al 28,6%(44 de 154) de las de gestión contratada donde esta diferencia es significativa ($p < 0,01$). Esto podría deberse, en los colegios de gestión directa, a que durante el tiempo que transcurre desde que la comida se elabora hasta el momento en el que se le sirve al niño en el comedor escolar, en la mayoría de los casos, las comidas permanecen a temperatura ambiente, lo que ayuda a una proliferación bacteriana. Así se observa que un 45,5% de los colegios de gestión directa incumplen en el almacenamiento a la temperatura correcta ($\geq 70^{\circ}\text{C}$).

Las de gestión contratada, sin embargo, se transportan en tanques o envases herméticos que garantizan la adecuada temperatura de los alimentos: los platos calientes deben conservarse a una temperatura superior a los 70°C , mientras que los fríos han de hacerlo como máximo a 3°C .

Richards y colaboradores (1993) encuentran que la comida, a menudo, es preparada largo tiempo antes de su consumo y que, a veces, puede ser distribuida a colegios por personas con poco entrenamiento en técnicas seguras de preparación o en el servicio de comidas.

Tabla 125. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de segundo plato según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	95	122	$\chi^2 = 8,25$ $p = 0,0040663$
Gestión contratada	44	110	

Entre las muestras de complementos de las dos gestiones, no existe diferencia significativa (tabla 126).

Tabla 126. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de complementos según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	21	50	$\chi^2 = 1,36$ $p = 0,2441084$
Gestión contratada	20	28	

En las muestras de postres no existen diferencias significativas, probablemente debido al escaso número de éstas analizadas (tabla 127).

Tabla 127. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de postres según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	1	7	Test de Fisher $p = 0,8888889$
Gestión contratada	0	1	

V.1.2.3. Muestras con aerobios mesófilos totales según el tratamiento térmico en gestión directa.

Los porcentajes de muestras de alimentos que se consumen calientes que superan los límites establecidos para aerobios mesófilos totales son del 37,9% y en muestras frías del 28,2%.

Para analizar si existen diferencias significativas entre los tipos de muestras se compara mediante tabla de contingencia 2 x 2 (tabla 128) las muestras calientes y frías, ambas de gestión directa, y se obtiene una $p=0,0563531$ superior al nivel de

significación ($p < 0,05$), por lo que no se detectan diferencias significativas entre ellas.

Tabla 128. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en platos calientes y fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Calientes	164	268	$\chi^2 = 3,64$
Frías	31	79	$p=0,0563531$

En nuestro estudio, a diferencia de lo referido por la mayoría de los autores existe un mayor número de platos calientes que fríos que incumplen la legislación vigente. Esto puede ser debido, por una parte, a que los límites para este parámetro son diferentes (calientes 10^3 UFC/g y fríos 10^5 UFC/g) y como observamos en la recogida de los alimentos, en los colegios se respeta más el mantenimiento en refrigeración de los alimentos fríos (un 98,2% de cumplimiento), mientras que los calientes, suelen conservarse a temperatura ambiente (un 45,5% no mantienen una temperatura mayor o igual a 70°C) que es óptima para el desarrollo de microorganismos aerobios mesófilos totales.

Vila-Ferrán y cols. (1986) encuentran en alimentos consumidos en colectividades que un 2,7% de las comidas frías y un 14,9% de las comidas calientes superan el límite establecido para aerobios mesófilos. Irigoyen y cols. (1992) en 24 comedores colectivos encuentran que 62,5% de muestras calientes exceden el límite fijado para aerobios mesófilos totales.

Caro y Cuello (1988) en la investigación de la calidad microbiológica de 32 muestras de alimentos con ingredientes críticos, encuentran que el 25% de las muestras frías analizadas (ensaladas con mayonesa) no cumplen la legislación. El mismo autor principal, posteriormente (1992), en otro trabajo realizado en ocho guarderías, doce colegios y seis comedores universitarios donde analiza un total de 139 muestras. El 31,6% de las muestras consumidas en frío y el 27,28% de las consumidas en caliente superan el límite establecido por la legislación española para las bacterias aerobias mesófilas. El autor afirma que el tratamiento post-cocinado a

que son sometidos los platos que sufren tratamiento térmico tiene una importancia relevante y no siempre es responsable el estado de la materia prima. También hace una consideración especial para los alimentos con ingredientes críticos (mayonesa), para los cuales el mantenimiento en refrigeración tras su elaboración y un rápido consumo, es fundamental para obtener una aceptable calidad higiénica y microbiológica de los mismos.

Arranz y cols. (1995) no encuentran diferencias en el incumplimiento para comidas frías y calientes en muestras de bares.

En el trabajo de Moreno y cols. (1996) sobre análisis microbiológico de comidas servidas en comedores colectivos de hospitales, colegios y bares encuentra mayor número de comidas que superan los límites de aerobios mesófilos en comidas que se consumen en frío que calientes. El incumplimiento de comidas recogidas de colegios y guarderías era de un 19,6% de comidas calientes frente a un 41,2% de comidas de consumo en frío.

Este autor justifica estos resultados al suponer que los platos que se consumen en caliente llevan un tratamiento culinario por calor que, cuando es correcto, destruye la flora bacteriana, mientras que los platos que se consumen en frío, aunque también pueden estar sometidos a tratamientos de cocción, etc., muchas veces contienen productos que no han sido sometidos a procesos térmicos, como verduras crudas en ensaladas, que les da una flora bacteriana inicial que aumenta fácilmente si los alimentos no se conservan a temperatura adecuada.

En el estudio de Riba-Sicart y cols. (1997) realizado a 962 preparaciones culinarias de comedores colectivos universitarios de Barcelona donde 611 (63,5%) son comidas consumidas en caliente y 351 (36,5%) en frío, el 43% (415 muestras) excedió en uno o varios parámetros la tolerancia admitida por la legislación vigente.

Torre y cols. (1998) observan que la manipulación influye en la calidad microbiológica de las comidas que necesitan frío, mientras que es la contaminación cruzada y el tiempo entre la preparación y el consumo lo que influye en la calidad microbiológica de las comidas consumidas calientes.

V.1.2.3.1. Platos calientes

En los platos calientes al comparar en una tabla de contingencia 2x3 (tabla 129) el número de muestras que superan los límites de primer plato, segundo plato y complementos se obtiene una $p=0,00401697$, inferior al nivel de significación ($p<0,01$), por lo que las diferencias entre las muestras es significativa.

Los porcentajes de muestras de primer plato, segundo plato y complementos que superan los límites son de 31,2% (59 de 189), 44,2%(91 de 206) y 21,6%(8 de 37) respectivamente.

Las muestras de primeros platos compuestos por legumbres superan en un 9% los límites para aerobios mesófilos. En un estudio de Mouffok (1992) siguiendo la legislación francesa, muy parecida a la nuestra, hay un 39% de platos de legumbres que superan esta legislación.

Tabla 129. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras calientes.

Muestras calientes	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	59	130	$c^2 = 11,03$
2 ^o platos	91	115	$p=0,00401697$
complementos	8	29	

Al analizar estos resultados dos a dos (en tablas de contingencia 2x2), y al comparar primero los que superan los límites de primeros platos frente a los segundos platos, luego primeros platos frente a complementos y finalmente segundos platos frente a complementos (tablas 130, 131 y 132 respectivamente), se observa que en la comparación de muestras de primer plato frente a los segundos platos y en la comparación de segundos platos frente a complementos se obtienen diferencias significativas. Sólo en la comparación de los resultados de muestras de primer plato frente a complementos las diferencias no son significativas.

Tabla130. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de primer y segundo plato calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	59	130	$c^2 = 6,49$ $p = 0,0108664$
2° platos	91	115	

Tabla 131. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de primer plato y complementos calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	8	29	$c^2 = 0,94$ $p = 0,3311013$
1 ^{eros} platos	59	130	

Tabla 132. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de complementos y segundo plato calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	8	29	$c^2 = 5,71$ $p = 0,0168957$
2° platos	91	115	

Estos resultados, parecen lógicos, ya que los primeros platos sufren un tratamiento de calor mucho mayor que las muestras de segundo plato como carnes y tortillas poco hechas. Con relación a los complementos, se analizaron un número pequeño de ellos y la mayoría es considerada apta.

Irigoyen y cols. (1992) analizan 483 platos de comedores colectivos y es en los segundos platos donde detectan mayor número de platos no aceptables (6,73%) frente a un 2% de los primeros. De ellos, los compuestos a base de carne muestran la incidencia más alta (50%). Las muestras con alto contenido de aerobios mesófilos totales corresponden a croquetas (18,7%) y a carne empanada (6,25%). También

muestras de hamburguesas, pescado rebozado, menestra y borraja presentan altos recuentos no sólo de aerobios mesófilos sino de *Enterobacteriaceae*. Se destaca aquí la posible contaminación postelaboración de estas últimas muestras mencionadas, probablemente localizada en los envases del transporte.

En nuestro estudio, en las muestras calientes de segundo plato de gestión directa, las carnes superan el límite para aerobios mesófilos en un 42,2% y en gestión contratada en un 16,9%, porcentajes algo inferiores al estudio realizado por Mouffok de 352 muestras donde las carnes cocinadas que no responden a las normas son un 62%. Esto lo explica, la autora, por el hecho de que las carnes están inicialmente fuertemente contaminadas (en su caso en un 77%), a lo que se une por otra parte el tiempo insuficiente de cocinado para las grandes piezas y la contaminación posterior al cocinado.

Respecto a nuestros resultados, las pastas superan en un 41,2%, las carnes incumplen en un 42,2%, los pescados en un 38,6%, las tortillas en un 60%, las croquetas en un 73,3% y las empanadillas en un 40%, valores superiores a los encontrados por Riba-Sicart y cols (1997) que encuentran que son las muestras preparadas con pasta donde un 33,4% incumplen algún parámetro de la legislación vigente. Las muestras de carne un 16%, las de pescado un 17,4%, las de huevo un 9,5%, en las verduras un 11,1% y croquetas y empanadillas un 18,2%. Estos autores muestran que el 18,2% de las comidas de consumo en caliente de comedores universitarios excedió algún parámetro y el 17,68% es debido a la presencia de flora banal.

V.1.2.3.2. Platos fríos

En el análisis de platos fríos de gestión directa mediante tabla de contingencia 2x3, donde 3 corresponde al número de tipos de muestras a comparar (ensaladas, segundos platos y complementos), se obtiene un valor p de 0,39643246, superior al nivel de significación establecido ($p < 0,05$) por lo que no existen diferencias significativas entre las muestras (tabla 133).

Los porcentajes de muestras de ensaladas, segundos platos y complementos que superan los límites son de 32,7%(19 de 58), 36,4%(4 de 11) y 20,6%(7 de 34) respectivamente.

Tabla 133. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras frías.

Muestras frías	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	19	39	$c^2 = 1,85$
2° platos	4	7	$p = 0,39643246$
complementos	7	27	

En un trabajo de Munuera y cols. (1993) realizado en los establecimientos de restauración situados en el recinto de la Expo, encuentran que en el caso de verduras crudas, los límites máximos tolerados de aerobios mesófilos y de enterobacterias que marca la legislación para comedores colectivos de comidas en frío, son superados considerablemente en prácticamente la totalidad de las muestras de ensaladas, incluso al realizar el lavado en inmersión con hipoclorito.

Al comparar los resultados analizados en tablas de contingencia 2x2, ensaladas frente a segundos platos, segundos platos frente a complementos y las ensaladas frente a complementos (tablas 134, 135 y 136, respectivamente), ninguna de estas comparaciones presenta diferencias significativas debido quizás al pequeño número de muestras.

Tabla 134. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de ensaladas y segundos platos fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	19	39	Test de Fisher
2° platos	4	7	$p = 0,5350706$

Tabla 135. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de complementos y segundos platos fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	7	27	Test de Fisher p=0,2503790
2° platos	4	7	

Tabla 136. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de complementos y ensaladas frías.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	7	27	c² = 1,02 p= 0,3117575
ensaladas	19	39	

En el estudio de Jacas y cols. (1997) realizado en 14 residencias geriátricas y 21 guarderías, donde 29 establecimientos tienen cocina propia y 6 servicio de catering, se encuentra que son las ensaladas el grupo más problemático con un elevado porcentaje de muestras con bacterias psicótrofas (67%) y un 33% de muestras con bacterias aerobias mesófilas a 31°C. La presencia de bacterias aerobias mesófilas denotarían una preparación con excesiva antelación o una higiene deficiente en la manipulación.

Riba-Sicart y cols (1997) en comedores universitarios encuentran un 86,6% de las comidas de consumo en frío que exceden en algún parámetro. El 79% es debido a la presencia de flora banal. Un 90,1% de las ensaladas verdes (mayoritariamente lechuga) incumplen la normativa vigente y un 96,2% de las ensaladas elaboradas (de pasta, quesos...). Mientras que en nuestro estudio, un 32,7% de las ensaladas son no aptas para los aerobios mesófilos totales y un 91,3% para las enterobacterias.

Este mismo autor, un año después, al aplicar un plan de mejora en la elaboración de las ensaladas en los comedores universitarios encuentra un 27,5% que cumplía la reglamentación técnico-sanitaria (antes sólo un 10%) donde en ninguna

de las muestras se detectan microorganismos patógenos. Los aerobios mesófilos pasaron de un 27,5% muestras que cumplían la legislación a 47,7%. La instauración de un control higiénico-sanitario, la educación sanitaria de los manipuladores y el análisis y dosificación correcta de la concentración de hipoclorito sódico en el lavado de hortalizas crudas apunta como un punto crítico de control a tener en cuenta para la mejora de la calidad bacteriológica de las ensaladas servidas en los comedores universitarios.

V.1.2.4. Muestras con aerobios mesófilos totales en gestión contratada.

Los resultados del número de muestras de gestión contratada que son aptas y las que no lo son, se someten a un análisis estadístico mediante tablas de contingencia 2x4, donde el cuatro es el número de muestras que se comparan (primer plato, segundo plato, ensaladas y complementos) y se obtiene el estadístico χ^2 y el valor p del nivel de significación siendo éste igual a 0,00040027, muy inferior al nivel establecido ($p < 0,01$), por lo que el análisis de las diferencias entre las muestras es concluyente (tabla 137).

Los porcentajes de muestras no aptas de primeros platos, ensaladas, segundos platos y complementos son de 25%(32 de 128), 60,6%(20 de 33), 28,6%(44 de 154) y 41,6%(20 de 48) respectivamente.

Tabla 137. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras con tratamiento culinario.

Muestras con tratamiento culinario	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	32	96	$\chi^2 = 18,20$ $p=0,00040027$
ensaladas	20	13	
2º platos	44	110	
complementos	20	28	

Para determinar entre que platos se presentan diferencias, se realiza el análisis estadístico mediante tablas de contingencia 2x2, es decir, se compara dos a dos las muestras para la determinación del estadístico χ^2 y el valor p del nivel de significación. Así al comparar las muestras de primeros platos frente a los segundos platos se obtiene una $p=0,5904531$, muy superior al nivel de significación por lo que la diferencia entre las muestras no es significativa. De igual manera, al comparar las ensaladas frente a los complementos y los segundos platos frente a los complementos no se obtienen diferencias significativas entre ellas.

Por el contrario, como se observa en la tabla 138 el análisis de las muestras de primeros platos frente a las ensaladas da un valor de p inferior al nivel de significación establecido ($p<0,01$), por lo que, la diferencia entre las muestras es significativa.

Tabla 138. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de primer plato y ensaladas con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	32	96	$c^2 = 13,63$ $p= 0,0002230$
ensaladas	20	13	

También en la comparación de las muestras de primeros platos y complementos ($p<0,05$) y en la de ensaladas y segundos platos ($p<0,01$), tablas 139 y 140, se observan diferencias significativas. Lo que puede ser esperado, ya que, son las ensaladas platos que no sufren tratamiento de calor y se consumen crudas, mientras que los segundos platos se han sometido a tratamientos de calor y con ello han perdido la mayor parte de su carga bacteriana.

Tabla 139. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de primer plato y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	32	96	$\chi^2 = 3,89$ $p = 0,0485127$
complementos	20	28	

Tabla 140. Análisis estadístico del recuento de aerobios mesófilos totales en muestras de ensaladas y segundo plato con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	20	13	$\chi^2 = 11,01$ $p = 0,0009078$
2° plato	44	110	

V.1.3. ENTEROBACTERIACEAE TOTALES

V.1.3.1. Muestras con *Enterobacteriaceae* totales por platos según el tipo de gestión.

El porcentaje de muestras no aptas del recuento de *Enterobacteriaceae* en muestras de gestión directa es de un 17,9% y un 17,3% de las muestras de gestión contratada. Al realizar un análisis estadístico se observa que no existen diferencias significativas entre las muestras según el tipo de gestión (tabla 141).

Igual ocurre en las muestras de gestión directa para el parámetro de aerobios mesófilos totales.

Tabla 141. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de gestión directa y en muestras de gestión contratada.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	97	445	$\chi^2 = 0,02$ $p = 0,8893956$
Gestión contratada	63	301	

Irigoyen y cols. (1992) encuentra que el 75% de las muestras calientes analizadas de una cocina central superan el límite para *Enterobacteriaceae*, valor imputable a una contaminación cruzada.

En el estudio ya mencionado de Jurado-Pérez y cols. (1999) realizado a comedores colectivos encuentran que un 38,2% de las muestras presentan recuentos superiores al límite establecido para esta familia. El elevado número de muestras con estos recuentos nos indica la deficiente manipulación y conservación.

V.1.3.2. Muestras con *Enterobacteriaceae* totales por platos según el tipo de gestión.

En el análisis de los diferentes platos por gestión no se observan diferencias significativas en ninguno de los casos.

En la comparación mediante tablas de contingencia 2x2 de las muestras de primer plato de ambas gestiones, se observa que no existen diferencias significativas, como se muestra en la tabla 142.

Tabla 142. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de primer plato según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	1	188	Test de Fisher p=0,5962145
Gestión contratada	0	128	

Irigoyen y cols (1992) encuentra que un 40% de las ensaladas rebasan los límites microbiológicos, donde el 44,4% de los platos muestreados proceden de una cocina central y el 35% de cocina propia.

En el análisis de las muestras de ensaladas, de segundos platos y complementos de ambas gestiones como se muestra en las tablas 143, 144 y 145 se hace necesario también el uso de las probabilidades de Fisher en dos de los casos, no obteniendo ninguno de ellos valores de p significativos.

Tabla 143. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de ensaladas según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	53	5	Test de Fisher p=0,0850081
Gestión contratada	26	7	

Tabla 144. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de segundo plato según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	33	184	$\chi^2 = 1,93$ $p = 0,1648196$
Gestión contratada	15	139	

Tabla 145. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de complementos según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	9	62	Test de Fisher $p = 0,2049465$
Gestión contratada	3	45	

En el caso de los postres el tamaño de la muestra es muy pequeño y como es evidente no hay diferencias significativas entre las muestras de gestión directa y contratada (tabla 146).

Tabla 146. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de postres según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	1	6	Test de Fisher $p = 0,8750000$
Gestión contratada	0	1	

V.1.3.3. Muestras con *Enterobacteriaceae* totales según el tratamiento térmico en gestión directa.

En el análisis de muestras no aptas y aptas en cuanto al recuento de *Enterobacteriaceae* el porcentaje de incumplimiento de las muestras calientes es de un 6% frente a un 64,5% de las muestras frías, clara diferencia entre ellas.

Al aplicar el análisis estadístico se detecta que existen diferencias significativas (tabla 147).

Tabla 147. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en platos calientes y fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Calientes	26	406	$\chi^2 = 200,42$ $p = 0,0000000$
Frías	71	39	

Moreno y cols. (1996) destacan los altos niveles de incumplimiento de la normativa vigente para este parámetro en las comidas de colegios y guarderías, que habitualmente se consumen en frío, donde el porcentaje de incumplimiento es del 53% frente al 10,7% de las comidas que se consumen en caliente, éste último un poco más alto al encontrado en nuestro estudio.

En el trabajo de Vila-Ferrán (1986) de alimentos consumidos en colectividades encuentra que el 38,3% de las comidas consumidas en frío y el 13,3% de las calientes superan los límites establecidos para este parámetro.

Irigoyen y cols. (1992) encuentra un 75% de las muestras calientes que excedían de los límites microbiológicos establecidos por la legislación vigente.

V.1.3.3.1. Platos calientes

En los platos calientes se realiza un estudio estadístico mediante tabla de contingencia 2x3, para comparar las muestras de primer plato, segundo plato y complementos, con la determinación del estadístico χ^2 y el valor p del nivel de

significación ($p < 0,01$) siendo éste igual a 0,00005171, inferior al nivel de significación y por tanto, las diferencias entre las muestras son significativas (tabla 148).

Tabla 148. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras calientes.

Muestras calientes	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	1	188	$\chi^2 = 19,74$
2 ^o platos	23	183	$p = 0,00005171$
complementos	2	35	

Las muestras calientes se comparan dos a dos según el tipo de plato. En las muestras de primer plato frente a las de segundo plato se obtiene un valor de $p = 0,0000256$, inferior al nivel de significación ($p < 0,01$) y, por tanto, se afirma que existe diferencia significativa entre ambas muestras. En la tabla 149 se refleja como sólo una muestra de primer plato es no apta frente a 23 de segundo plato. El porcentaje de incumplimiento que se obtiene es de 0,5% en los primeros platos y 11,2% en los segundos platos. Este resultado es similar al obtenido en el recuento de aerobios mesófilos totales.

Tabla 149. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de primer y segundo plato calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	1	188	$\chi^2 = 17,72$
2 ^o platos	23	183	$p = 0,0000256$

En el análisis estadístico, mediante tablas de contingencia 2x2, de complementos frente a primeros platos y de complementos frente a segundos platos, se puede concluir que no hay diferencias significativas entre ellas (tablas 150 y 151).

Tabla 150. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de primer plato y complementos calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	2	35	Test de Fisher p=0,0703982
1 ^{eros} platos	1	188	

Tabla 151. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de complementos y segundo plato calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	2	35	Test de Fisher p=0,2289461
2° platos	23	183	

V.1.3.3.2. Platos fríos

En el análisis de los distintos platos fríos (ensaladas, segundos platos y complementos) mediante tabla de contingencia 2x3 donde se incluye la totalidad de estos platos, se obtiene un valor de $p=0,0000000$ inferior al nivel de significación ($p<0,01$) por lo que se puede decir que las muestras presentan diferencias significativas de recuento de *Enterobacteriaceae* totales (tabla 152).

Tabla 152. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras frías.

Muestras frías	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Ensaladas	53	5	$c^2 = 52,31$ p=0,0000000
2° platos	10	1	
complementos	7	27	

Se analizan tres tipos distintos de platos fríos de gestión directa donde se obtiene un alto porcentaje de muestras no aptas de ensaladas (91,4%) y de segundos platos (90,9%), mientras que en los complementos el porcentaje es menor (20,6%).

Es importante destacar, como ya mencionamos, el elevado número de muestras de ensaladas y segundos platos que incumplen la legislación vigente para este parámetro, lo que puede indicar una mala manipulación y un déficit en la higiene de la preparación de estos platos, por la utilización de menaje y utillaje procedente de otras actividades (como el cortado de la carne), sin la previa limpieza y desinfección. La contaminación de los segundos platos puede deberse a una rotura en la cadena de mantenimiento de frío.

Munuera y cols. (1993) encuentran que en el caso de verduras crudas, los límites máximos tolerados de enterobacterias para platos fríos son superados prácticamente en la totalidad de las muestras de ensaladas, incluso al realizar su lavado con una fase de inmersión prolongada en solución de hipoclorito.

Riba-Sicart (1998) al aplicar un plan de mejora en la elaboración de las ensaladas en los comedores universitarios encuentra que el valor de las enterobacterias pasaron de un 20% de las muestras que cumplían la legislación a un 30%, sobre todo con un control periódico del cumplimiento de la utilización de hipoclorito sódico en el lavado de hortalizas crudas.

En un análisis más detallado de las muestras frías de nuestro estudio, y al comparar, las ensaladas frente a los segundos platos y los complementos frente a los segundos platos (tablas 153 y 154) y aplicar el cálculo exacto de las probabilidades de Fisher, se obtiene en el primer caso una $p=0,6623606$ superior al nivel de significación ($p<0,05$) y, por tanto, no hay diferencias significativas entre las muestras y en el segundo caso un valor de $p=0,0000549$, inferior al nivel de significación ($p<0,01$) y entonces la diferencia entre las muestras de segundos platos y complementos es significativa.

Tabla 153. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de ensaladas y segundos platos fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	53	5	Test de Fisher p=0,6623606
2° platos	10	1	

Tabla 154. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de complementos y segundos platos fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	7	27	Test de Fisher p=0,0000549
2° platos	10	1	

En la tabla 155 se representa el análisis estadístico de los complementos frente a las ensaladas y se muestra como hay diferencias significativas con un valor de $p=0,0000000$ ($p<0,01$). En las hortalizas crudas, usadas como complementos de los segundos platos, hay un 22,2% de muestras no aptas para las enterobacterias que puede ser debido, como ya comentamos, a un lavado inadecuado de ellas.

Un 28,5% de huevos duros son no aptos para el recuento de *Enterobacteriaceae*, que puede ser debido a que no se realiza un enfriamiento rápido de los huevos cocinados o que no se hace un lavado a fondo de las manos del manipulador en el proceso del pelado.

Tabla 155. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de complementos y ensaladas frías.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	7	27	$\chi^2 = 44,28$ p= 0,0000000
ensaladas	53	5	

V.1.3.4. Muestras con *Enterobacteriaceae* totales en gestión contratada.

Los resultados del número de muestras de gestión contratada que son aptas y las que no lo son, se someten a un análisis estadístico mediante tablas de contingencia 2x4, donde el cuatro es el número de muestras que se comparan (primer plato, ensaladas, segundo plato y complementos) y se obtiene el estadístico χ^2 y el valor p del nivel de significación siendo éste igual a 0,0000000, muy inferior al nivel establecido ($p < 0,01$), por lo que, el análisis de las diferencias entre las muestras es significativa (tabla 156).

Los porcentajes de muestras no aptas de ensaladas, segundos platos y complementos son de 84,8%(28 de 33), 18,1%(28 de 154) y 14,5% (7 de 48) respectivamente.

Tabla 156. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras con tratamiento culinario.

Muestras con tratamiento culinario	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	$c^2 = 132,02$ $p=0,0000000$
ensaladas	28	5	
2 ^o platos	28	126	
complementos	7	41	

En el trabajo de Irigoyen y cols (1992) el 25% de las comidas transportadas en caliente desde la cocina central tienen temperaturas inferiores a las establecidas por la legislación vigente.

Jacas y cols. (1997) en un estudio microbiológico realizado en 14 residencias geriátricas y 21 guarderías donde 29 establecimientos tienen cocina propia y 6 servicio de catering, se encuentra que son las ensaladas el grupo más problemático con un significativo 50% de muestras con enterobacterias. Esto lo explicaría por la falta de limpieza y desinfección adecuadas al prepararlas.

Para determinar entre que platos se presentan diferencias se realiza el análisis estadístico mediante tablas de contingencia 2x2, es decir, se compara dos a dos las muestras para la determinación del estadístico χ^2 y el valor p del nivel de significación. Así al comparar las muestras de primeros platos frente a las ensaladas se obtiene una $p=0,0000000$, inferior al nivel de significación ($p<0,01$) y las diferencias son significativas (tabla 157).

Tabla 157. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de primer plato y ensaladas con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	$\chi^2 = 125,63$ $p = 0,0000000$
ensaladas	28	5	

Al igual ocurre en los primeros frente a los segundos platos donde se obtiene una $p=0,0000010$, inferior al nivel de significación ($p<0,01$), por lo que, la diferencia entre las muestras es significativa (tabla 158).

Tabla 158. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de primer y segundo plato con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	$\chi^2 = 23,85$ $p = 0,0000010$
2 ^o plato	28	126	

Si comparamos los primeros platos frente a los complementos se observa que la diferencia entre las muestras es significativa (tabla 159).

Con el análisis de las muestras de ensaladas frente a los segundos platos se observa que un 84,8% de las primeras son no aptas frente a un 18,1% de los

segundos y así el estadístico χ^2 y el valor p lo demuestran ($\chi^2 = 54,44$ y $p=0,00000000$) estableciendo claras diferencias entre las muestras (tabla 160).

Tabla 159. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de primer plato y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	Test de Fisher p=0,0000800
complementos	7	41	

Tabla 160. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de ensaladas y segundo plato con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	28	5	$c^2 = 54,44$ p= 0,0000000
2° plato	28	126	

Al comparar las ensaladas frente a los complementos y los segundos platos frente a los complementos se obtienen unos valores de p iguales a 0,00000000 y 0,7212652, respectivamente, por lo que la diferencia en el primer caso es evidente ($p<0,01$) y en el segundo caso no es significativa ya que el valor de p es superior al nivel de significación ($p<0,05$) (tablas 161 y 162).

Tabla 161. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de ensaladas y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	28	5	$c^2 = 36,53$ p= 0,0000000
complementos	7	41	

Tabla 162. Análisis estadístico del recuento de *Enterobacteriaceae* totales en muestras de segundos platos y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
2° platos	28	126	$c^2 = 0,13$ $p = 0,7212652$
complementos	7	41	

V.1.4. COLIFORMES FECALES Y ESCHERICHIA COLI

En la legislación vigente no existe un valor límite para los coliformes fecales, únicamente está legislado el valor de *Escherichia coli*. Nosotros consideramos de interés incluir este parámetro, ya que *E. coli* no es el único coliforme fecal aunque se utilice de indicador. Para ello hemos aplicado el mismo límite para los coliformes fecales que para *E. coli*: ausencia de ufc/g en comidas calientes y en comidas con tratamiento culinario y hasta 10 ufc/g en comidas frías.

V.1.4.1. Muestras con coliformes fecales y *E. coli* según el tipo de gestión.

El porcentaje de muestras no aptas es de un 12% y 9,8% en muestras de gestión directa y gestión contratada para el recuento de coliformes fecales. Y de un 3,5% y 3,6% para el recuento de *E. coli* en las mismas. Al realizar un análisis estadístico mediante tabla de contingencia 2x2 para la determinación del estadístico χ^2 y el valor p del nivel de significación se obtiene que $p=0,3798614$ y $p=0,8958673$, por lo que no existen diferencias significativas entre las muestras según el tipo de gestión (tabla 163 y 164).

Tabla 163. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de gestión directa y en muestras de gestión contratada.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	65	477	$\chi^2 = 0,77$ $p = 0,3798614$
Gestión contratada	36	328	

Tabla 164. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de gestión directa y en muestras de gestión contratada.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	19	523	$\chi^2 = 0,02$ $p = 0,8958673$
Gestión contratada	13	351	

La presencia de este tipo de microorganismos indica una manipulación incorrecta de los alimentos, que en algunos casos puede tener su origen en deficiencias de equipamiento. Por ejemplo, una contaminación fecal podría relacionarse con la ausencia de un lavamanos no manual en los servicios higiénicos o con la falta de jabón para el lavado de manos y del sistema de secado de un solo uso. En nuestro estudio, en los colegios de gestión directa, sólo existe lavamanos no manual en los servicios higiénicos en un 5,5% y más del 47% no tienen los utensilios necesarios para realizar un adecuado lavado de manos. Mientras que en los colegios de gestión contratada, las deficiencias son mayores.

Thompson en su estudio sobre la diarrea infecciosa en niños (1994), pone de manifiesto que esta infección es provocada muchas veces por agentes bacterianos como *E. coli* enterodiarreico que se transmite por un contacto persona-persona dentro del grupo de las cuidadoras y a los alimentos que preparan, sobre todo, por un inadecuado lavado de manos.

Irigoyen y cols. (1992) obtienen un 18,75% de las muestras calientes con *E. coli*.

Arranz y cols. (1995) encuentran más de 10 ufc/g de *E. coli* en el 24% de las ensaladillas, en el 4% de los productos cárnicos y en el 8% de las tortillas.

En el estudio de Simango (1995) de 340 muestras de comidas y bebidas recolectadas de familias con niños menores de 5 años, en 37% se encuentra *E. coli*, con un 3% de *E. coli* enterotoxigénico y 2% de enteropatógeno. Muestras de *sadza* (torta gruesa de harina de maíz y avena) es en donde mayor porcentaje de *E. coli* se encuentra (7%). La causa de la contaminación de las comidas puede ser el uso de agua contaminada para su preparación o la utilización de productos crudos, contaminando así las manos de los manipuladores y los utensilios usados.

Agostini y cols. (1997) en un estudio microbiológico de comidas argentinas encuentran que el 19,5% de las muestras analizadas resultaron no satisfactorias, principalmente por recuentos excesivos de coliformes totales y fecales junto a los aerobios mesófilos, ya mencionados. Los resultados indican falta de higiene en los procesos culinarios, en el ambiente y en los manipuladores; así como también insuficientes procesos térmicos de cocción.

Jurado-Pérez y cols. (1999) presentan el 2,25% de las muestras con recuentos de *Escherichia coli*.

V.1.4.2. Muestras con coliformes fecales y *E. coli* por platos según el tipo de gestión.

En el análisis de los diferentes platos por gestión no se observan diferencias significativas en ninguno de los casos como se menciona en el recuento de *Enterobacteriaceae* totales.

Al utilizar las tablas de contingencia 2x2 de las muestras de ensaladas de ambas gestiones no hay diferencias significativas al obtener una $p=0,8320808$ superior al nivel de significación ($p<0,05$) para el recuento de coliformes fecales (tabla 165) y una $p=0,7903685$ para el recuento de *E. coli*, como se observa en la tabla 166.

Tabla 165. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de ensaladas según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	42	16	$c^2 = 0,04$ $p= 0,8320808$
Gestión contratada	24	9	

Tabla 166. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de ensaladas según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	13	45	$\chi^2 = 0,07$ $p = 0,7903685$
Gestión contratada	9	24	

De igual manera, ocurre con las muestras de segundo plato y las muestras de complementos con valores de $p=0,7123092$ y $p=0,3669242$, (tablas 167 y 168) respectivamente, para el recuento de coliformes fecales y $p=0,6569819$ y $p=0,6796489$ (tablas 169 y 170) para el recuento de *E. coli*. Valores superiores al nivel de significación establecido ($p < 0,05$), lo que da lugar a no obtener diferencias significativas entre ellas.

Tabla 167. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de segundo plato según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	16	201	$\chi^2 = 0,14$ $p = 0,7123092$
Gestión contratada	9	145	

Tabla 168. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de complementos según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	7	64	Test de Fisher $p = 0,3669242$
Gestión contratada	3	45	

Tabla 169. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de segundo plato según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	3	214	Test de Fisher p= 0,6569819
Gestión contratada	2	152	

Tabla 170. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de complementos según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	3	68	Test de Fisher p= 0,6796489
Gestión contratada	2	46	

V.1.4.3. Muestras con coliformes fecales y *E. coli* según el tratamiento térmico en gestión directa.

En el análisis de las muestras respecto al recuento de coliformes fecales, el porcentaje de incumplimiento de muestras calientes es de un 2,3% frente a un 50% de muestras frías. Para el caso del recuento de *Escherichia coli*, el porcentaje de muestras calientes no aptas es de 0,23% y para las muestras frías de 16,4%. Esta diferencia se comprueba con el análisis estadístico mediante tablas de contingencia 2x2 para la determinación del estadístico χ^2 y del valor p donde se obtiene una p=0,0000000 para los dos análisis (p<0,01) por lo que hay diferencias significativas (tablas 171 y 172).

Tabla 171. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en platos calientes y fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Calientes	10	422	$\chi^2 = 184,40$ $p = 0,000000$
Frías	55	55	

Tabla 172. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en platos calientes y fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Calientes	1	431	$\chi^2 = 62,77$ $p = 0,000000$
Frías	18	92	

El porcentaje de *Escherichia coli* aislado en muestras calientes, en nuestro estudio, es de un 0,23% y de 16,4% en muestras frías, mientras que Moreno y cols. (1996) encuentran un 1,8% de muestras calientes con este microorganismo y un 3,2% en muestras frías. Mouffok y cols. (1992) observan que de 352 platos cocinados un 8,5% de las muestras analizadas tienen *E. coli*.

Caro y cols. (1992) encuentra *E. coli* en una sola muestra de comida consumida en caliente de un total de 139 (0,7%).

En el estudio de 1230 muestras de alimentos preparados cocinados, Ibáñez (1992) detecta *E. coli* en un 4,6% y son los platos a base de carnes donde está presente.

V.1.4.3.1. Platos calientes

En los platos calientes, primer plato, segundo plato y complementos, se realiza un estudio estadístico mediante tabla de contingencia 2x3 con la determinación del estadístico χ^2 y el valor p igual a 0,00364127 inferior al nivel de significación ($p < 0,01$), por lo que, las diferencias entre las muestras son significativas para el recuento de coliformes fecales (tabla 173). Y para el recuento

de *E. coli* (tala 174) el valor de p obtenido es 0,57705574, superior al nivel de significación establecido ($p < 0,05$) y no hay diferencias significativas entre las muestras de los distintos platos para este parámetro.

Tabla 173. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras calientes.

Muestras calientes	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	189	$\chi^2 = 11,23$
2 ^o platos	10	196	$p=0,00364127$
complementos	0	37	

Tabla 174. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras calientes.

Muestras calientes	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	189	$\chi^2 = 1,10$
2 ^o platos	1	205	$p=0,57705574$
complementos	0	37	

Al comparar las muestras de primer plato frente a las de segundo plato para el recuento de coliformes fecales se obtiene un valor de $p=0,0013373$ al utilizar las probabilidades de Fisher, inferior al nivel de significación ($p < 0,01$) y, por tanto, se afirma que existe diferencia significativa entre ellas. Se observa en la tabla 175 donde no hay ninguna (0%) muestra de primer plato considerada no apta frente a 10 (4,8%) no aptas de segundo plato.

Tabla 175. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de primer y segundo plato calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	189	Test de Fisher p= 0,0013373
2 ^o platos	10	196	

En el recuento de *E. coli* de las muestras de primer plato frente y las de segundo plato se utiliza el test de Fisher y se obtiene un valor de $p=0,5215190$, superior al nivel de significación ($p<0,05$) y, así no hay diferencias significativas entre las muestras (tabla 176). De los 10 segundos platos con coliformes fecales sólo uno tiene *E. coli*, lo que indica de la importancia de los otros coliformes en la contaminación de los alimentos, indicándonos de una manipulación y elaboración deficientes. *E. coli* tiene el inconveniente de vivir poco tiempo en el ambiente extraentérico, por lo que su presencia en los alimentos indica contaminación reciente.

Respecto al resto de coliformes fecales en los segundos platos calientes, es *Enterobacter aerogenes* el que se detecta en un 36,3% de las muestras analizadas y *Enterobacter cloacae* en un 27,3%.

Tabla 176. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de primer y segundo plato calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	189	Test de Fisher p= 0,5215190
2 ^o platos	1	205	

En la comparación de muestras de complementos con muestras de segundos platos mediante tablas de contingencia 2x2 y con el cálculo exacto de las probabilidades de Fisher para el recuento de coliformes fecales se obtiene una $p=0,1852424$ y para el de *E. coli* una $p=0,8477366$, superiores al nivel de significación ($p<0,05$), por lo que no hay diferencias significativas (tabla 177 y 178).

Tabla 177. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de complementos y segundos platos calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	0	37	Test de Fisher p= 0,1852424
2° platos	10	196	

Tabla 178. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de complementos y segundo plato calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	0	37	Test de Fisher p= 0,8477366
2° platos	1	205	

V.1.4.3.2. Platos fríos

En el análisis de los distintos platos fríos (ensaladas, segundos platos y complementos) mediante tabla de contingencia 2x3 donde se incluye la totalidad de estos platos, se obtiene un valor de $p=0,00000944$ inferior al nivel de significación ($p<0,01$) por lo que se puede decir que las muestras presentan diferencias significativas para el recuento de coliformes fecales (tabla 179).

Tabla 179. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras frías.

Muestras frías	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	42	16	$c^2 = 23,14$ p=0,00000944
2° platos	6	5	
complementos	7	27	

Para el recuento de *E. coli*, el valor de p obtenido es de 0,25292109, superior al nivel de significación establecido ($p < 0,05$) y no hay diferencias significativas entre los tipos de muestras frías (tabla 180).

Tabla 180. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras frías.

Muestras frías	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	13	45	$\chi^2 = 2,75$
2° platos	2	9	$p = 0,25292109$
complementos	3	31	

Entre los tipos de platos fríos de gestión directa se obtiene un alto porcentaje de muestras no aptas para coliformes fecales en ensaladas (72,4%) y en segundos platos (54,5%), mientras que en los complementos el porcentaje es menor (20,6%) como ocurre en el caso de las *Enterobacteriaceae* totales. El porcentaje de ensaladas no aptas con *E. coli* es de 22,4%, el de segundos platos de 18,2% y el de complementos de 8,8%.

En nuestro estudio, *E. coli* en las muestras frías es el coliforme fecal mayoritariamente aislado con un 31%, seguido de *Enterobacter aerogenes* con un 20,7%, *Enterobacter cloacae* con un 17,2% y otras especies en menores porcentajes. Es de destacar que en las muestras frías *E. coli* es el microorganismo aislado en mayor cantidad y en las calientes *Enterobacter aerogenes*.

Arranz y cols. obtienen un 24% de muestras no aptas de ensaladillas de bares.

En el análisis de las muestras frías mediante tablas de contingencia 2x2, y al comparar las ensaladas frente a los segundos platos y los complementos frente a los segundos platos, como se observa en las tablas 181 y 182, mediante el cálculo exacto de las probabilidades de Fisher, se obtiene una $p = 0,2023914$ y una $p = 0,0407874$, respectivamente, superior al nivel de significación ($p < 0,05$) en el primer caso e inferior en el segundo caso, por tanto, se concluye que no hay diferencias significativas entre las muestras de ensaladas y segundo plato y sí entre las muestras de complementos y segundos platos para el recuento de coliformes fecales.

Tabla 181. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de ensaladas y segundos platos fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	42	16	Test de Fisher p= 0,2023914
2° platos	6	5	

Tabla 182. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de complementos y segundos platos fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	7	27	Test de Fisher p= 0,0407874
2° platos	6	5	

En el análisis del recuento de *E. coli* en las muestras de ensaladas comparadas con las muestras de segundo plato no hay diferencias significativas entre ellas, al igual que con las muestras de segundo plato y complementos donde se obtienen valores superiores al nivel de significación establecido ($p < 0,05$) (tablas 183 y 184).

Tabla 183. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de ensaladas y segundos platos fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	13	45	Test de Fisher p= 0,5554672
2° platos	2	9	

Tabla 184. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de complementos y segundos platos fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	3	31	Test de Fisher p= 0,3547074
2° platos	2	9	

En la tabla 185 se representa el análisis estadístico de los complementos frente a las ensaladas y se muestra como hay diferencias significativas con un valor de $p=0,0000044$ ($p<0,01$) para el recuento de coliformes fecales, pero para el recuento de *E. coli* no hay diferencias significativas entre esas muestras con $p=0,1691079$ (tabla 186).

Tabla 185. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de complementos y ensaladas frías.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	7	27	$\chi^2 = 21,09$ p= 0,0000044
ensaladas	42	16	

Tabla 186. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de complementos y ensaladas frías.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	3	31	$\chi^2 = 1,89$ p= 0,1691079
ensaladas	13	45	

V.1.4.4. Muestras con coliformes fecales en gestión contratada.

Los resultados del número de muestras de gestión contratada (primer plato, ensaladas, segundo plato y complementos) aptas y no aptas se comparan mediante análisis estadístico con tablas de contingencia 2x4, donde se obtiene el estadístico χ^2 y el valor p del nivel de significación dando un resultado de p igual a 0,0000000, muy inferior al nivel establecido ($p < 0,01$) tanto para el recuento de coliformes fecales como para el de *E. coli*, por lo que las diferencias entre las muestras son significativas (tabla 187 y 188).

Las muestras de primer plato son todas aptas. Los porcentajes de muestras no aptas de ensaladas, segundos platos y complementos para coliformes fecales son de 72,7% (24 de 33), 6,2% (9 de 154) y 6,6% (3 de 48) respectivamente, donde resalta el elevado porcentaje de ensaladas no aptas. El porcentaje de ensaladas no aptas con *E. coli* disminuye y queda con un 27,3% (9 de 33), los segundos platos también con un 1,3% (2 de 154) y los complementos no aptos con un 4,2% (2 de 48).

Aquí, al igual que en las muestras frías, *E. coli* es la especie que se aísla mayoritariamente, seguida de *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae*.

Tabla 187. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras con tratamiento culinario.

Muestras con tratamiento culinario	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	$\chi^2 = 163,40$ $p=0,0000000$
ensaladas	24	9	
2 ^o platos	9	145	
complementos	3	45	

Tabla 188. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras con tratamiento culinario.

Muestras con tratamiento culinario	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	$\chi^2 = 60,77$ $p = 0,0000000$
ensaladas	9	24	
2 ^o platos	2	152	
complementos	2	46	

Se comparan las distintas muestras con tablas de contingencia 2x2 y con la determinación del estadístico χ^2 y el valor p del nivel de significación.

Las muestras de primeros platos frente a las ensaladas da una $p = 0,0000000$, por lo que, las diferencias entre las muestras tanto para el recuento de coliformes fecales como para el de *E. coli* son significativas (tabla 189 y 190).

Tabla 189. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de primer plato y ensaladas con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	Test de Fisher $p = 0,0000000$
ensaladas	24	9	

Tabla 190. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de primer plato y ensaladas con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	$\chi^2 = 31,99$ $p = 0,0000000$
ensaladas	9	24	

Si comparamos los primeros platos frente a los segundos y frente a los complementos es necesario utilizar las probabilidades de Fisher con $p=0,0038726$ y $p=0,0193641$, respectivamente, inferiores al nivel de significación ($p<0,01$ y $p<0,05$) y entonces la diferencia entre las muestras es significativa (tabla 191 y 192).

Tabla 191. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de primer y segundo plato con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	Test de Fisher p= 0,0038726
2° plato	9	145	

Tabla 192. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de primer plato y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	Test de Fisher p= 0,0193641
complementos	3	45	

Para el análisis estadístico del recuento de *E. coli* en los primeros platos con los segundos y con los complementos se obtienen, con el test de Fisher, valores de $p=0,2973423$ y $p=0,0732468$, superiores al nivel de significación establecido ($p<0,05$), no se establecen así diferencias significativas entre las muestras, como se observa en las tablas 193 y 194.

Tabla 193. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de primer y segundo plato con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	Test de Fisher p= 0,2973423
2° plato	2	152	

Tabla 194. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de primer plato y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	Test de Fisher p= 0,0732468
complementos	2	46	

Al igual que ocurría con la determinación del parámetro de *Enterobacteriaceae*, el porcentaje de muestras de ensaladas no aptas para coliformes fecales es alto, 72,7% y el de segundos platos, por el contrario, es inferior (5,8%). Se pone de manifiesto con el valor de p ($p=0,00000000$), por lo que se consigue demostrar claras diferencias entre las muestras (tabla 195). También existen diferencias significativas entre ellas para el recuento de *E. coli* con un valor de $p=0,0000001$ (tabla 196).

Tabla 195. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de ensaladas y segundo plato con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	24	9	$c^2 = 79,11$ p= 0,0000000
2 ^o plato	9	145	

Tabla 196. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de ensaladas y segundo plato con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	9	24	$c^2 = 28,59$ p= 0,0000001
2 ^o plato	2	152	

En la comparación de las ensaladas y segundos platos con los complementos, para el recuento de coliformes fecales, se obtienen unos valores de p iguales a 0,00000000 (ensaladas y complementos) y 0,5751767 (segundos platos y complementos), por lo que la diferencia en el primer caso existe ($p < 0,01$) y en el segundo caso no es significativa ya que el valor de p es superior al nivel de significación ($p < 0,05$) (tablas 197 y 198). Esto mismo ocurre para el recuento de *E. coli* en la comparación de este tipo de muestras, con valores de $p = 0,0079876$ (ensaladas y complementos) y $p = 0,2398149$ (segundos platos y complementos) como se observa en las tablas 199 y 200.

Tabla 197. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de ensaladas y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	24	9	$c^2 = 35,96$ $p = 0,0000000$
complementos	3	45	

Tabla 198. Análisis estadístico del recuento de coliformes fecales en muestras de segundo plato y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
2° plato	9	145	Test de Fisher $p = 0,5751767$
complementos	3	45	

Tabla 199. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de ensaladas y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	9	24	$\chi^2 = 7,04$ $p = 0,0079876$
complementos	2	46	

Tabla 200. Análisis estadístico del recuento de *E. coli* en muestras de segundo plato y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
2° plato	2	152	Test de Fisher $p = 0,2398149$
complementos	2	46	

V.1.5. SALMONELLA SPP.

No se ha detectado la presencia de este patógeno en ninguna de las muestras analizadas. Al igual que Caro (1988 y 1992) en 32 muestras de ensalada con mayonesa de 4 comedores universitarios de Murcia y en 139 muestras procedentes de colegios, guarderías y colegios universitarios. Moreno y cols. (1996) en 345 muestras de comedores colectivos de hospitales, colegios y bares y Pérez-Silva y cols. (1998) en 90 alimentos no encuentran microorganismos de este género.

En un brote de toxiinfección que afectó a 211 escolares en Brasil, Kaku y cols. (1995) revelan la presencia de *Salmonella enteritidis* (38,9%) en los coprocultivos de 82 afectados y en las sobras de los alimentos consumidos (paté, mayonesa preparada con huevos frescos y papas cocidas) en una cantidad de 10^4 a 10^5 microorganismos por gramo.

En el estudio realizado por Mouffok y cols. (1992) se encuentra que el 1,5% de las muestras analizadas se aísla *Salmonella spp.* Estas 5 muestras son tres entrantes (un salchichón y dos *crudités*) y dos pollos cocidos.

Fábrega y Forcadell (1992) en el análisis de 353 muestras procedentes de platos preparados congelados detecta *Salmonella spp.* en 9 muestras (2,5%), en su mayoría platos a base de carnes.

Hatakka (1992) encuentra en un brote que afecta a 226 personas (107 pasajeros de un ferrocarril, 91 de líneas aéreas y 28 empleados de un catering con una incidencia en los primeros del 18%, en los segundos del 26% y 17% en los últimos) a *Salmonella infantis* como el microorganismo causante. Un trabajador del catering era portador sano y así se extendió la epidemia ayudada por una ola de calor y un defecto en el almacenamiento en frío de los alimentos preparados y distribuidos.

En el estudio de Ferrer y cols. (1992) se detecta *Salmonella* (principalmente subespecie *enteritidis*) en un total de 11 muestras (0,9%) de 1230 muestras de alimentos preparados cocinados. En 6 de las cuales también se aísla *Escherichia coli*. Este hecho lo atribuye a la elevada contaminación por este microorganismo que presentan las carnes frescas, en especial la de pollo, que es considerada como uno de los principales vehículos de transmisión de la salmonelosis al hombre.

Arranz y cols. (1995) aslan *Salmonella* en tres muestras de un total de 61 (un 5%). Una en una ensaladilla (*S. typhimurium*) y dos de productos cárnicos (*S. goldcoast*).

Riba-Sicart y cols. (1997) en 962 muestras de comedores universitarios encuentran un 1,4% con este patógeno.

Levine y cols. (1991) en 115 brotes alimentarios ocurridos en clínicas de reposo desde los años 1975 hasta 1987 con 4944 enfermos y 51 muertes, encuentran que de 52 brotes de causas conocidas, *Salmonella* (56%) fue el patógeno más aislado. También Hubert y Rufat (1992) en 62 casos de brotes estudiados encuentran que el agente causal en 33 de ellos fue *Salmonella* (53%).

V.1.6. STAPHYLOCOCCUS AUREUS.

No se detecta la presencia de este microorganismo en ninguna de las muestras analizadas de gestión contratada, pero sí en tres de muestras de gestión directa.

El porcentaje de muestras no aptas es de un 0,5% en muestras de gestión directa frente a un 0% en contratada. En el análisis estadístico no se detectan diferencias significativas entre las muestras según el tipo de gestión.

Al comparar las muestras de gestión directa, calientes y frías, se obtiene que un 0,2% de las muestras de calientes son no aptas y un 1,8% de las frías. Si se comparan mediante análisis estadístico se obtiene que no hay diferencias significativas entre ellas.

La muestra caliente fue pollo y las frías, salpicón de atún y ensaladilla.

El *S. aureus* se multiplica rápidamente a temperatura ambiente y si existe un tratamiento térmico insuficiente puede desarrollarse con mayor facilidad. En las muestras frías, su presencia puede ser debida por una higiene defectuosa de las manos del manipulador, al toser, estornudar, masticar chicle y comer, mientras se manipulan los alimentos, o por una contaminación cruzada.

Wieneke y cols. (1993) encuentra que la carne, el pollo principalmente, es el vehículo en un 75% de los casos de brotes por este microorganismo. Alimentos como pescado o derivados de éste tienen una incidencia del 7% en los brotes.

Un valor similar al nuestro en las muestras calientes encuentran Vila-Ferrán y cols. (1986) con un 0,4% en comidas calientes y ausencia en alimentos fríos.

Caro y Cuello (1988) detectan la presencia de *S. aureus* enterotoxigénico en el 43,75% de las muestras frías investigadas, ensalada con mayonesa. Años posteriores se repite este porcentaje para muestras frías por el mismo autor en un estudio de 139 muestras.

En las muestras de gestión contratada, 364, no se obtiene ningún recuento al igual que Pérez-Silva y cols. (1998) en 90 alimentos recogidos en colegios.

Richards y cols. (1993) investigan un brote de infección alimentaria en una cocina central que sirve a 4 colegios. Se identifica la enterotoxina A de *Staphylococcus aureus*, con un 18 a un 47% de casos relacionados con el consumo de jamón. Un manipulador informa del hecho de quitar las envolturas de dos de nueve rollos de jamón caliente 48 horas antes del servicio. Esto ayudado por una impropia refrigeración, una prolongada manipulación y un inadecuado recalentamiento hace que el jamón permanezca a temperaturas de hasta 49°C.

Mouffok y cols. (1992) encuentran un 7,5% de muestras que superan el límite de 10^3 microorganismos/gr según la legislación francesa.

Fábrega y Forcadell (1992) en un análisis de 353 muestras procedentes de platos preparados congelados detecta *S. aureus* en 6 muestras (1,7%), mayoritariamente carnes y pescados.

Ferrer y cols. (1992) en el análisis de 1230 muestras de alimentos preparados cocinados encuentra estafilococos enterotoxigénicos en un 1,1% donde los alimentos mayoritariamente implicados fueron las carnes (2,1%) y las ensaladas (1,4%).

Hubert y Rufat (1992) de 62 casos de brotes de toxiinfección estudiados encuentran que el agente causal en 18 casos es *Staphylococcus spp.* (29%).

Ibáñez y cols. (1994) en 2013 muestras de restauración colectiva procedentes de establecimientos que concurren en el recinto de EXPO'92, no detectan la presencia de *S. aureus* en un 95,4% y en sólo el 4,6% se aísla este microorganismo. Todos los recuentos fueron inferiores a 10^4 ufc/g. El 0,54% es *S. aureus* enterotoxigénico y los alimentos más contaminados son ensaladilla, huevo de pato cocido y las ensaladas. Predominan los platos no tratados por el calor dado la termolabilidad del microorganismo. Las cepas enterotoxigénicas pueden proceder de la materia prima que no ha sufrido un tratamiento adecuado o de la contaminación cruzada, en la manipulación de alimentos preparados con alimentos de animales crudos contaminados.

Arranz y cols. (1995) aísla *Staphylococcus aureus* en el 4,9% del total de las muestras, todas de ensaladillas.

En el estudio ya mencionado de Jurado-Pérez y cols. (1999) un 5,62% de las muestras presentan recuentos superiores al límite establecido para *Staphylococcus aureus*.

Discusión

Levine y cols. (1991) en 115 brotes de toxiinfección ocurridos en clínicas de reposo desde los años 1975 hasta 1987 con 4944 enfermos y 51 muertes, encuentran que *Staphylococcus spp.* fue el segundo patógeno más aislado con un 23%.

V.1.7. CLOSTRIDIUM SPP.

No hay ninguna muestra donde se detecte la presencia de microorganismos de este género.

En el estudio de Caro y Cuello (1988) en 4 comedores universitarios se detecta este mismo microorganismo en un 6,25% de las muestras investigadas (ensalada con mayonesa) y en 1992 sólo encuentra una muestra con este microorganismo de 139 procedentes de colegios, guarderías y comedores universitarios.

En el estudio de Hubert y Rufat (1992), al igual que ocurre con *Staphylococcus spp.*, en 18 casos se aísla *Clostridium perfringens* (29%).

En el estudio microbiológico de 1230 muestras de alimentos preparados cocinados de Ibáñez (1994) se obtienen recuentos de *C. perfringens* superiores a 10^2 ufc/g en un 0,6%.

Moreno y cols. (1996) identifican *Clostridium perfringens* en un 3,6% de muestras calientes y en un 17,6% de frías recogidas de colegios y guarderías.

Pérez-Silva y cols. (1998) con un análisis de 90 alimentos recogidos de 44 comedores colectivos de alto riesgo no detecta la presencia de este microorganismo.

Jurado-Pérez y cols. (1999) obtienen que un 2,25% de las muestras, los recuentos superan los límites para *Clostridium perfringens*.

V.1.8. ENTEROCOCCUS SPP.

V.1.8.1. Muestras con *Enterococcus spp.* según el tipo de gestión.

En la legislación española, para las muestras de gestión directa no existe límite para este parámetro y en el estudio hemos aplicado el mismo que para las muestras de gestión contratada (10^2 ufc/g). Se realiza una comparación de las muestras que superan los límites para *Enterococcus spp.* en las de gestión directa (1,3%) y las de gestión contratada (1,1%).

En el análisis estadístico mediante tablas de contingencia 2x2 se obtiene un valor p de 0,5278752, superior al nivel de significación establecido ($p < 0,05$) por lo que no se encuentran diferencias significativas para este parámetro según el tipo de gestión como se observa en la tabla 201.

Tabla 201. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de gestión directa y en muestras de gestión contratada.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	7	535	Test de Fisher p= 0,5278752
Gestión contratada	4	360	

V.1.8.2. Muestras con *Enterococcus spp.* por platos según el tipo de gestión.

Todas las muestras de primer plato no presentan recuentos positivos para este parámetro. Al comparar las muestras de ensaladas y segundos platos según gestión no se obtienen diferencias significativas con valores de $p=0,6236458$ y $p=0,6264698$ superiores al nivel de significación ($p < 0,05$) (tablas 202 y 203).

En las ensaladas de gestión directa es donde mayor porcentaje (6,9%) de muestras consideradas no aptas se obtiene, junto a 6,1% en muestras de gestión contratada.

Tabla 202. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de ensaladas según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	4	54	Test de Fisher p= 0,6236458
Gestión contratada	2	31	

Tabla 203. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de segundo plato según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	2	215	Test de Fisher p= 0,6264698
Gestión contratada	1	153	

Con las muestras de complementos de las dos gestiones, no existe diferencia significativa al tener una $p=0,6460618$ superior al nivel de significación ($p<0,05$) (tabla 204).

Las muestras de postres son consideradas todas aptas.

Tabla 204. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de complementos según el tipo de gestión.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Gestión directa	1	70	Test de Fisher p= 0,6460618
Gestión contratada	1	47	

V.1.8.3. Muestras con *Enterococcus spp.* según el tratamiento térmico en gestión directa.

El porcentaje de muestras calientes que supera los límites establecidos para *Enterococcus spp.* es de 0,2% frente a 5,4% de muestras frías.

Para analizar si existen diferencias significativas entre ellas se realiza un análisis estadístico, mediante tabla de contingencia 2 x 2, para la determinación del valor de p y el estadístico χ^2 y se obtiene una $p=0,0003650$, inferior al nivel de significación ($p < 0,01$), por lo que, existen diferencias significativas entre las muestras calientes y frías (tabla 205).

Tabla 205. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en platos calientes y fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
Calientes	1	431	$\chi^2 = 14,89$ $p=0,0003650$
Frías	6	104	

V.1.8.3.1. Platos calientes

Al comparar en los platos calientes mediante tabla de contingencia 2x3 el número de muestras que superan los límites de primer plato, segundo plato y complementos se obtiene una $p=0,57705574$, superior al nivel de significación ($p < 0,05$), por lo que no existe diferencia entre las muestras ya que sólo hay una muestra de segundo plato considerada no apta de un total de 206. Las muestras de primer plato y complementos son todas aptas (tabla 206).

Tabla 206. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras calientes.

Muestras calientes	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	189	$\chi^2 = 1,10$ $p=0,57705574$
2 ^o platos	1	205	
complementos	0	37	

Al analizar los resultados dos a dos, primeros platos frente a segundos y éstos frente a complementos mediante tablas de contingencia 2x2 se observa que no se obtienen diferencias significativas con valores de $p=0,5215190$ y $p=0,8477366$, respectivamente (tablas 207 y 208).

Tabla 207. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de primer y segundo plato calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	189	Test de Fisher p=0,5215190
2° platos	1	205	

Tabla 208. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de complementos y segundo plato calientes.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	0	37	Test de Fisher p=0,8477366
2° platos	1	205	

V.1.8.3.2. Platos fríos

En el análisis de platos fríos de gestión directa mediante tabla de contingencia 2x3, donde 3 corresponde al número de tipos de muestras a comparar (ensaladas, segundos platos y complementos), se obtiene un valor p de 0,65354255, superior al nivel de significación establecido ($p<0,05$), por lo que no existen diferencias significativas entre las muestras (tabla 209).

Los porcentajes de muestras de ensaladas, segundos platos y complementos que superan los límites son de 6,9%(4 de 58), 9,1%(1 de 11) y 2,9%(1 de 34) respectivamente.

Tabla 209. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras frías.

Muestras frías	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	4	54	$c^2 = 0,85$ $p = 0,65354255$
2° platos	1	10	
complementos	1	33	

Al comparar los resultados analizados en tablas de contingencia 2x2, ensaladas frente a segundos platos, segundos platos frente a complementos y las ensaladas frente a complementos (tablas 210, 211 y 212, respectivamente), no se presentan diferencias significativas entre ellas, aplicar los valores exactos de Fisher y quizás debido al pequeño número de muestras.

Tabla 210. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de ensaladas y segundos platos fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	4	54	Test de Fisher $p = 0,5922845$
2° platos	1	10	

Tabla 211. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de complementos y segundos platos fríos.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	1	33	Test de Fisher $p = 0,4333333$
2° platos	1	10	

Tabla 212. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de complementos y ensaladas frías.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
complementos	1	33	Test de Fisher $p = 0,3865068$
ensaladas	4	54	

V.1.8.4. Muestras con *Enterococcus spp.* en gestión contratada.

Los resultados del número de muestras no aptas (1,1%) y aptas (98,9%) de gestión contratada se comparan y se someten a un análisis estadístico, mediante tablas de contingencia 2x4, donde el cuatro es el número de muestras que se comparan (primer plato, ensaladas, segundo plato y complementos) y se obtiene el estadístico χ^2 y el valor p del nivel de significación siendo éste igual a 0,02243859, inferior al nivel establecido ($p < 0,05$), por lo que el análisis de las diferencias entre las muestras es significativo (tabla 213).

No existe ninguna muestra de primer plato considerada no apta.

Los porcentajes de muestras no aptas de ensaladas, segundos platos y complementos son de 6,1%(2 de 33), 0,6%(1 de 154) y 2,1%(1 de 48), respectivamente.

Tabla 213. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp* en muestras con tratamiento culinario.

Muestras con tratamiento culinario	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	$c^2 = 9,59$ $p=0,02243859$
ensaladas	2	31	
2 ^o platos	1	153	
complementos	1	47	

En el trabajo de Caro y Cuello (1988) se encuentra que el 18,75% de las muestras superaban el recuento establecido por la legislación. Cuatro años más tarde este autor encuentra el mismo porcentaje en 139 muestras estudiadas.

Para determinar entre que platos se presentan diferencias significativas se realiza el análisis estadístico mediante tablas de contingencia 2x2, es decir, se compara dos a dos las muestras para la determinación del estadístico χ^2 y el valor p del nivel de significación.

Al comparar las muestras de primeros platos frente a las ensaladas se obtiene una $p=0,0409938$, inferior al nivel de significación por lo que la diferencia entre las muestras es significativa (tabla 214).

Tabla 214. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de primer plato y ensaladas con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{er} plato	0	128	Test de Fisher $p= 0,0409938$
Ensaladas	2	31	

En el análisis de las muestras restantes no se observan diferencias significativas entre ellas (tablas 215, 216, 217, 218 y 219).

Tabla 215. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de primer y segundo plato con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	Test de Fisher $p= 0,5460993$
2 ^o plato	1	153	

Tabla 216. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp.* en muestras de primer plato y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
1 ^{eros} platos	0	128	Test de Fisher $p= 0,2727273$
complementos	1	47	

Tabla 217. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp* en muestras de ensaladas y segundo plato con tratamiento culinario.

Muestras	<u>No aptas</u>	Aptas	Análisis estadístico
ensaladas	2	31	Test de Fisher p= 0,0809067
2° plato	1	153	

Tabla 218. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp* en muestras de ensaladas y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	Aptas	No aptas	Análisis estadístico
ensaladas	2	31	Test de Fisher p= 0,3609939
complementos	1	47	

Tabla 219. Análisis estadístico del recuento de *Enterococcus spp* en muestras de segundo plato y complementos con tratamiento culinario.

Muestras	No aptas	Aptas	Análisis estadístico
2° plato	1	153	Test de Fisher p= 0,4196838
complementos	1	47	

En el estudio de Fábrega y Forcadell (1992) en donde analiza 353 muestras de platos preparados congelados es el grupo de *Enterococcus spp*. donde mayor cantidad de muestras que superan los límites microbiológicos se obtienen (69), resultado que según los autores concuerda con el hecho de tratarse de un microorganismo muy resistente a condiciones extremas de temperatura.

V.2. ANÁLISIS DE PELIGROS Y PUNTOS DE CONTROL CRÍTICO

La disposición de una cocina que cumpla un diseño higiénico facilitará el desarrollo del aumento de la calidad del servicio y disminuirá el riesgo de aparición de infecciones e intoxicaciones alimentarias y los problemas que conllevan aparejados (Lloret, 1997).

En las características generales del establecimiento dedicado a la preparación de las comidas servidas en los comedores escolares de elaboración propia destacamos la falta de dotación de los servicios higiénicos donde no hay agua caliente en un 67,3%, papeleras en un 60%, toallas de un solo uso en un 54,5% y cepillo de uñas en un 47,3%. También es importante destacar que sólo en un 5,5% se dispone de lavamanos de accionamiento no manual en estas dependencias.

En los locales destinados a cocina es necesario que se disponga de agua caliente, lavamanos de accionamiento no manual y que éstos tengan jabón líquido, cepillo de uñas, toallas de un solo uso y papeleras para realizar un adecuado lavado y secado de manos, práctica higiénica de gran importancia. En la gestión directa, sólo un 7,3% de los locales no tienen papeleras. La ausencia de cepillo de uñas en los lavamanos es 69,1% y la ausencia de lavamanos de accionamiento no manual es relevante (94,5%).

En el estudio de Aznar y Linares (1986) realizado a 71 comedores escolares de la ciudad de Alicante se encuentra unos valores mayores en la existencia de lavamanos no manual (11,3%) aunque ésta sigue siendo baja, pero una falta en los accesorios de aseo de un 73,2% y de un 36,6% sin agua caliente.

Por otro lado, en el establecimiento de colegios de gestión contratada, la falta de dotación de utensilios para un adecuado lavado y secado de manos en los servicios higiénicos es relativamente importante. El agua caliente falta en el 91,9%, el cepillo de uñas en el 97,3%, las toallas de un solo uso en el 83,8%, las papeleras en un 75,7% y sólo hay lavamanos no manual en un caso. Es conveniente indicar que

en un 73% no se dispone de vestuarios para realizar el cambio de ropa el personal. Es de destacar que el uso de cepillo de uñas en cocina es una práctica poco generalizada.

Tampoco existen recipientes de cierre hermético para los desechos en el 51,4% frente al 20% encontrado en los locales de gestión directa.

Arias y Linares (1986) obtienen un 49,2% de incumplimiento en cubos de basura sin tapadera hermética.

En el trabajo de Sánchez y cols. (1992) de 40 establecimientos dedicados a la elaboración, preparación y venta de platos preparados en el Municipio de Madrid, donde 21 corresponden a comedores escolares, 6 a cocinas centrales y 13 a establecimientos que elaboran y venden platos preparados que se comercializan congelados, refrigerados y como de consumo inmediato, la principal deficiencia (60%) encontrada es la falta de vestuarios higiénicos para el personal, seguida de una inadecuada distribución de las dependencias y falta de residuos de cierre hermético (53%), iluminación incorrecta y falta de redes antiparasitarias (50%), junto a otras características en menor porcentaje.

En el estudio de Arias y cols. (1998) se encuentra que el 46% de los colegios públicos y el 11% de los colegios concertados no presentan dispositivos de cierre hermético para almacenar residuos.

En el estudio realizado en Elda en comedores escolares (Hernández, 1988), destacan como deficiencias más comunes, la ausencia de lavamanos de accionamiento no manual, jabón líquido y toallas de un solo uso, iguales en nuestro estudio. Por el contrario, en el estudio de Pérez-Silva y cols. (1998) realizado a comedores de alto riesgo de la Comunidad de Madrid no encuentran, en ninguno de los comedores inspeccionados, anomalías en la dotación de lavamanos de accionamiento no manual, jabón líquido y toallas de un solo uso en las cocinas.

Negra y cols. (1993) en un seguimiento a 179 establecimientos (bares y restaurantes) observan que la instalación de accesorios para facilitar una correcta higiene de las manos del personal manipulador de alimentos, la instalación de agua caliente y accesorios higiénicos en los servicios son unas medidas necesarias de corregir.

En relación con las condiciones en el comedor o recinto para el servicio de las comidas contratadas por un catering, no hay diferencias en las zonas de manipulación o servicio de productos crudos y elaborados en un 81,1% ni se dispone de agua

caliente en un 75,7%. En el 70,3% no hay lavamanos de accionamiento no manual y tanto en el jabón líquido, como en los cepillos de uñas, en las toallas de un solo uso y en las papeleras hay gran déficit, destacando que en ningún local hay cepillo de uñas.

Cabe mencionar, que muchas veces los locales destinados al servicio de comidas contratadas de un catering suelen ser antiguas cocinas del colegio que ya no se utilizan para la elaboración y que no están dotadas con los utensilios necesarios. En otros casos son recintos de clases habilitadas para ello.

En un trabajo de Reguera y cols. (1993) al realizar una inspección sanitaria de los locales de 5 comedores colectivos observó que las salas de preparación de alimentos presentaban deficiencias en cuanto al acondicionamiento higiénico del local, algunos de ellos con una distribución inadecuada de las zonas de trabajo, lo que no ocurre en nuestro estudio. Por otro lado, en un comedor se observó una distribución deficiente del material y utillaje utilizados y dos comedores (que no tenían las deficiencias anteriores) no disponían de una adecuada iluminación y el otro tenía una ventilación deficiente, y esto no destaca en nuestro estudio.

En el almacenamiento de materias primas en los colegios de gestión directa, llama la atención que todas las materias primas y los alimentos utilizados en la elaboración de las comidas presenten documentación oficial de su procedencia. Al igual que en el estudio de Arias (1998) de 24 colegios del municipio de Oviedo. Nurmi y Hirn (1990) afirman que solamente desde materias primas de alta calidad pueden obtenerse alimentos de alta calidad.

Según Bryan (1990), unas materias primas inicialmente contaminadas repercuten en un 9% a la aparición de brotes de toxiinfecciones.

En la identificación de materias primas potencialmente peligrosas, Munuera y cols. (1993) demuestran que los alimentos con mayor contaminación y presencia de patógenos son, lógicamente, alimentos crudos: carnes crudas, especialmente carnes picadas y embutidos crudo-curados frescos; huevos crudos o insuficientemente cocinados, verduras crudas mal lavadas y moluscos.

Las cámaras frigoríficas, en nuestro estudio, no están separadas de la cocina en un 54.5% y dentro de las mismas no existe separación de los distintos productos en el 34,5%.

En el estudio de Arranz y cols. (1995) al estudiar 61 establecimientos de bares detecta diferencias entre la temperatura real y la marcada por el termómetro exterior en las vitrinas expositoras refrigeradas, sólo se mantiene la temperatura de conservación igual o inferior a 3°C en un caso de 20 de los bares visitados. Esto podría relacionarse con un valor elevado del recuento de microorganismos en los platos fríos.

Sánchez y cols. (1992) señalan la importancia de un 40% de centros inspeccionados con alimentos preparados almacenados a temperatura ambiente. El enfriamiento inadecuado de los alimentos es uno de los factores que con mayor frecuencia se considera responsable de los brotes de toxiinfecciones y suele ser el mantenimiento de los alimentos a temperatura ambiente durante periodos prolongados de tiempo la causa fundamental en la aparición de brotes (56%, Bryan 1990).

Por esto, Astiasarán y cols. (1995) recomiendan que los alimentos cocinados sufran un enfriamiento rápido de forma que la temperatura en el centro de más lento enfriamiento del producto descienda de 70°C a 3°C en un tiempo máximo de 90 minutos.

También Sánchez y cols. (1992) con relación a las cámaras de congelación, observan que tanto la temperatura como las condiciones higiénicas de las mismas y la separación entre materias primas y productos elaborados cumplen las normas legales vigentes en aproximadamente el 75% de los centros, y en las cámaras de refrigeración en un 67%.

Cuando los alimentos se mantienen a temperaturas ni lo suficiente altas ni lo suficiente bajas crecen los microorganismos aerobios mesófilos. En el estudio de Pérez-Silva (1998) se encuentra un problema común en los establecimientos estudiados, una ventilación del aire insuficiente, lo que contribuye a elevar la temperatura ambiente de estas cocinas.

En los equipos y útiles de trabajo, en los dos establecimientos tanto de gestión directa como contratada, no hay deficiencias y los materiales y estado de conservación son los adecuados.

Según Bryan (1990), una mala limpieza de equipo y utensilios repercute en un 6% a la aparición de brotes de toxiinfecciones.

En el estudio de Vila-Ferrán y cols. (1986), un 6,7% de los cubiertos analizados presentan más de 100 ufc/g de aerobios.

Irigoyen y cols. (1992) encuentran que son los cortafiambres, estantes de cámaras y termos como las superficies menos limpias. Los envases de transporte isotermos en un 15% de los muestreados dan un mayor número de aerobios mesófilos que los tolerados. En nuestro estudio, el porcentaje de muestras no aptas para aerobios mesófilos totales en muestras de gestión contratada es de un 31,9%, lo que podría también estar relacionado con un inadecuado lavado de los envases de transporte.

La desinfección, desinsectación y desratización de los locales se lleva a cabo en los de gestión directa en un 81,8% y en los de gestión contratada en un 40,5%.

No existe almacenamiento de productos de limpieza en un 18,2% en los colegios de gestión directa, valor superado por los colegios de gestión contratada (59,5%).

No existe limpieza de los elementos desmontables de la maquinaria, en un solo colegio de gestión directa frente a 14 (37,8%) de los colegios de gestión contratada.

El proceso de limpieza es automático en más colegios de gestión directa (96,4%) que de contratada (83,8%), alcanzando el agua temperaturas de más de 80°C.

En los colegios de gestión directa, las verduras y hortalizas no son lavadas de forma correcta en un 25,5%, lo que puede estar relacionado con el alto porcentaje de *E. coli* encontrado en las ensaladas (75,9%) y, que también, podría ser la causa en las elaboradas en un catering, al encontrar que el 71% presentan recuento para *E. coli*.

La presencia de coliformes indica tratamiento inadecuado y/o contaminación posterior al tratamiento, a partir de materias primas, equipos sucios o manejo no higiénico, o también, una multiplicación microbiana que pudiera haber permitido el crecimiento de toda la serie de microorganismos patógenos y toxigénicos.

En las salas de preparación de ensaladas se aumenta el peligro de contaminación si los ingredientes son manipulados con las manos, si los vegetales se remojan en un fregadero que previamente ha sido usado para descongelar o lavar aves de corral, si los utensilios para el cortado no están lavados adecuadamente, si la temperatura de refrigeración no baja de 3°C y si se hace con poca frecuencia un lavado de manos (Bryan, 1990).

Es muy importante destacar que en ningún caso se utilizan ovoproductos estabilizados biológicamente. Aunque en nuestro caso no se detectó la presencia de *Salmonella spp.* es relevante la importancia de no utilizar huevos frescos para la elaboración de mayonesas y aquellas elaboradas con ovoproductos deberían ser desechadas a las 24 horas de elaboradas. Aquí, principalmente, al igual que en los platos fríos el mantenimiento de las temperaturas en refrigeración por debajo de 3°C es una práctica que no debe olvidarse, pero en un 9,1% de los colegios de nuestro estudio no se mantiene esta temperatura, ayudando a la proliferación bacteriana.

De la misma índole es el mantenimiento de los platos calientes en temperaturas por encima de 70°C, en los colegios de gestión directa de nuestro estudio, esta práctica no se lleva a cabo en el 45,5%, lo que puede explicar la gran cantidad de microorganismos aerobios mesófilos totales encontrados en los platos calientes (38%).

En los alimentos consumidos en caliente, el calentamiento del alimento podría destruir la carga microbiana patógena. Ahora bien, los calentamientos cortos de alimentos preparados que suelen aplicarse para ponerlos a la temperatura adecuada de consumo, no aseguran la destrucción de los microorganismos causantes de infecciones e intoxicaciones alimentarias hasta niveles no peligrosos.

Un recalentamiento inadecuado de los platos elaborados contribuye con un 20% a la aparición de brotes, un mantenimiento caliente impropio en un 16% y un cocimiento inadecuado en un 4% (Bryan, 1990). También afirma que si existe una

contaminación cruzada desde los alimentos originales a los cocinados, ésta influye en un 5% en la aparición de brotes alimentarios.

Durante la preparación de comidas calientes se observan una serie de peligros como no exceder de una hora de permanencia de estos platos a temperatura ambiente, el realizar una insuficiente descongelación que lleva a un inadecuado cocinado del alimento, uso de tablas de corte y utensilios para materias primas como carnes crudas y luego usarlos para alimentos cocinados sin un previo lavado y desinfectado, un impropio calentamiento y enfriamiento y una manipulación por parte del personal de cocina errónea, entre otros (Bryan, 1990).

En un 25% de los centros estudiados por Sánchez y cols. (1992) se comprueba que se utilizan temperaturas inadecuadas de almacenamiento de platos preparados de consumo inmediato.

Irigoyen y cols. (1992) en un estudio de comedores colectivos encuentra que el 25% de los platos calientes preparados en cocina central no tenían las temperaturas adecuadas sino inferiores a las debidas. La mayoría de los platos poco calientes corresponden a segundos platos sin salsa, principalmente carnes (44%). Hay que señalar que los envases donde se transportan estos alimentos son isoterms. En ensayos realizados se aprecia un ligero descenso de 2-3°C por hora en largos trayectos.

Munuera y cols. (1993) detectan la presencia de patógenos en productos tratados por el calor (fritos, cocidos y a la plancha), por diversas causas como un insuficiente cocinado, una inadecuada temperatura de conservación, una materia prima deficiente, etc.

Salvat y Colin (1995) en su estudio, sobre las industrias cárnicas, concluyen que la limpieza y desinfección son esenciales para conseguir una carne de mayor calidad.

Los manipuladores de alimentos en los colegios estudiados ya sean de elaboración propia o contratada poseen el carnet de manipulador y utilizan indumentaria adecuada y exclusiva para el trabajo. Aznar y Linares (1986) reflejan la existencia de un 39,4% de los manipuladores sin indumentaria adecuada y un 32,3% que no tienen el carnet de manipulador. Sánchez y cols. (1992) destacan la falta de utilización de cubrecabezas en un 40% de los manipuladores. Negra y cols.

(1993) en recintos de bares descubren personal manipulador sin carnet. Sin embargo, en el estudio de Arias (1998) aunque los manipuladores tienen el carnet no utilizan una prenda adecuada para cubrir el cabello.

Uno de los factores que más tienen que ver con la aparición de brotes en un 24%, según Bryan (1990), es la manipulación de alimentos por personas infectadas.

En el estudio de Powell y Attwell (1995) se encuentra que no existe relación entre el riesgo potencial de un brote alimentario y la cantidad de colonias de bacterias en un alimento. Tampoco había una relación entre los puntos positivos obtenidos en una inspección del local y la calidad bacteriológica en la comida.

En el estudio de Jacas y cols. (1997) sobre vigilancia sanitaria realizado a 14 residencias geriátricas y 21 guarderías se observa que las principales deficiencias encontradas en los locales son la separación de circuitos crudo/cocinado, la desinfección correcta de las hortalizas, la utilización de ropa exclusiva de trabajo y la separación entre la zona limpia y la zona sucia.

V.3. ESTUDIO NUTRICIONAL

Las características del comedor escolar hacen necesario extremar el cuidado en las raciones aportadas, de manera que garanticen ingestas de seguridad para todos los niños. Se aconseja aportar el 25% de las calorías en el desayuno, para así atender la actividad física e intelectual del niño en la escuela. Durante la comida se aportará el 30% del total calórico y no más para evitar la somnolencia postprandial que puede llegar a causar dificultades en el aprendizaje. En la merienda se consumirá el 15-20% y en la cena el 25-30% de los requerimientos calóricos (Román, 1998 y Hernández, 1999).

No se conoce la ración real que ingieren los niños, depende de la cantidad servida y de lo que el niño deja en el plato.

Para la evaluación de la calidad nutricional de la dieta se ha utilizado como referencia la revisión de las Ingestas Recomendadas para la población española correspondiente al grupo de edad de 4 a 12 años, elaboradas por Varela (1994), tomando en cada uno de los parámetros, una media del valor recomendado para los distintos grupos de edad.

Para los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados nos hemos basado en las recomendaciones por De Cos (1998).

Al comparar la composición nutricional encontrada en los menús escolares analizados con la composición encontrada por otros autores resulta difícil, debido al escaso número de estudios donde ésta se haya calculado en el menú escolar.

En nuestro estudio, la ingesta media de energía en el comedor escolar se sitúa en 706,02 Kcal con una desviación estándar de $\pm 281,19$, lo que representa como media el 33% de las ingestas recomendadas.

Michel y cols. (1994) en el análisis de la composición nutricional de los menús servidos en dos escuelas, una rural y otra más industrializada, encuentran que las calorías aportadas en los menús de la escuela más moderna son de 622,9 Kcal y 615 Kcal en la otra. Esto puede deberse al hecho de se comen más perritos calientes, hamburguesas y pizzas en la escuela más moderna.

En el estudio de Varó y cols. (1998), los valores calóricos medios del menú semanal de seis comedores escolares oscilan entre 580 y 1300 Kcal. En el estudio de la nutrición de la población canaria realizado por Sierra y Doreste (1990) se pone de manifiesto que la dieta del individuo canario es hipercalórica, con una ingesta de proteínas y lípidos superior a lo recomendado.

Con relación a los aportes de proteínas en el comedor escolar, el valor medio obtenido es de $32,46 \pm 14,60$ g, contribuyendo en cada grupo de edad y sexo a una media ponderada (unos 37,5g de proteínas para niños entre 4 y 12 años) del 86% de las ingestas recomendadas para este nutriente. Según la ingesta recomendada de nutrientes calóricos establecida para una población, en lo que a proteínas se refiere (10-15% de la ingesta calórica total), el consumo medio de las mismas se encuentra por encima de estos valores (19,11%).

En el estudio nutricional de Pérez-Llamas (1993) en comedores universitarios de Murcia, el porcentaje de proteínas encontrado es mayor del 20%.

El estudio en colectivos escolares madrileños (103 niños entre 2 y 5 años de edad y 210 entre 9 y 13 años) de Requejo y cols. (1994) obtiene un porcentaje diario de calorías aportado por las proteínas superior al recomendado (16%). Al igual que el encontrado en el estudio de Michel y cols. (1994) de dos comedores escolares con porcentajes de 18% y 21% de proteínas respecto a la contribución al aporte calórico total.

En el estudio de Failde y cols. (1997) realizado en una población escolar (344 escolares de ambos sexos entre 8 y 15 años de edad) de un núcleo rural de Cádiz, se muestra que la ingestión proteica en el día es elevada en todos los grupos de edad.

Los menús analizados por Varó y cols. (1998) presentan valores medios de proteínas comprendidos entre 16% y 21% respecto al valor energético total. Y valores inferiores a éstos se encuentran en un grupo de estudios de diferentes zonas geográficas (Navarra, Reus, Comunidad Autónoma de Madrid y provincia de Teruel) realizado por Gorgojo y cols. (1999) que observa que en los niños, los porcentajes de calorías correspondientes a proteínas en el día varían entre el 14.1 y el 17.3% y en las niñas de 14.0 y 18.0%.

En un trabajo realizado por Armas y cols. (1998) a una población escolar de 692 niños de colegios públicos del Puerto de la Cruz en Tenerife y al analizar 55 menús,

se verifica que existe un exceso en la composición energética y nutricional de los menús cuando se analizan conjuntamente, donde destaca el aporte excesivo de grasas de los mismos, a expensas principalmente de ácidos grasos insaturados.

Con respecto a los glúcidos, cuyo objetivo nutricional se sitúa entre 55-65% de la ingesta calórica total, en nuestro estudio el porcentaje medio encontrado en las comidas servidas en los comedores escolares está en el límite más bajo (54%).

En los comedores universitarios del estudio de Pérez-Llamas (1993), aparece un déficit en el contenido de hidratos de carbono de las comidas, menor del 50%.

En el estudio ya mencionado de Requejo y cols. (1994) y en el de Michel y cols. (1994), la energía procedente de los carbohidratos es ligeramente deficitaria (43%) en el aporte diario. Pero Varó y cols. (1998) sitúan los hidratos de carbono en el comedor escolar entre el 54% y 60%, es decir, dentro de lo recomendado y aconsejan que se mantengan los tamaños de las raciones de los primeros platos al ser ricos en este principio inmediato.

Gorgojo y cols. (1999) encuentran unos porcentajes de ingestión de hidratos de carbono en el día entre el 39.7 y el 45.2% en los niños y entre el 38.8 y el 44.9% en las niñas.

Los lípidos en el menú escolar se sitúan aproximadamente en un 28%, valor que se encuentra dentro de los recomendados por Aranceta (1995) con 25-30%, y muy similar al encontrado por Varó y cols. (1998), desde un 19% a 28%.

Los ácidos grasos saturados contribuyen en un 8,6% a la ingesta calórica, los ácidos grasos monoinsaturados con un 11,7% y los ácidos grasos poliinsaturados con un 9,7%. Las ingestas medias de colesterol están en torno a los 77 mg/día.

Según las recomendaciones De Cos (1998), el perfil de ácidos grasos sería de un 10-12% de la energía aportada por los ácidos grasos monoinsaturados, hasta el 10% de saturados y un 8-10% de poliinsaturados. Los valores obtenidos por nosotros están incluidos dentro de estas recomendaciones.

Snyder y cols. (1992) en un estudio implantado en 34 colegios de diferentes áreas geográficas de Minnesota para disminuir la grasa y el sodio de los menús del almuerzo, consiguieron un descenso del total de grasa en el menú en un 39% (de 32g

a 20g) y del porcentaje de energía procedente de la grasa hasta el 29% desde el 40% después del análisis.

Estudios americanos han estimado que el almuerzo del colegio proporciona aproximadamente un 39% de energía grasa total y un 21% de energía de grasa saturada. Organizaciones de la Salud Americanas como el Departamento de Agricultura y el Departamento de Salud y Servicios Humanos, recomiendan que los niños a partir de 2 años de edad consuman 30% o menos de la energía de grasa total y un 10% o menos de la energía de ácidos grasos saturados y que el almuerzo del colegio debe ofrecer comidas que están reducidas en grasa. Estos son los objetivos nutritivos del programa *CATCH (Child and Adolescent Trial for Cardiovascular Health)* junto a reducir el contenido de sodio en un 25%. En este estudio se pretenden reducir los factores de riesgo cardiovascular en los niños a través de cambios en las aulas de los planes de estudio, clases de educación física y con un programa de la comida del colegio (Snyder, 1994).

El estudio de Alvarez y cols. (1996) analiza 25 menús de un comedor escolar gallego recogidos durante 5 semanas, constituidos éstos por un primer plato a base de ensaladas y un segundo y tercer plato de pescado y carne. Los resultados reflejan una deficiencia en ácidos grasos monoinsaturados (6% media), un valor adecuado de ácidos grasos saturados (4,5%) y un porcentaje elevado de poliinsaturados (13%). Además se encuentra que en el 68% de los días se proporciona más del doble de la cantidad diaria recomendada de colesterol. Se trata de menús hipercalóricos (una media de 4000 kcal) donde sólo se tiene en cuenta la comida principal.

Michel y cols. (1999), encuentran porcentajes de lípidos del menú de dos colegios escolares en los alrededores del 40% y un exceso de ácidos grasos saturados (12,6%), favoreciendo la aparición de enfermedades cardiovasculares.

Fernández y cols. (1996) en el trabajo del consumo de lácteos y su contribución en la dieta de escolares de la comunidad de Madrid encuentra que el 28% del total de la ingesta de grasa saturada proviene de la ingesta de carne y derivados.

En el estudio de Gorgojo (1999), los porcentajes correspondientes a grasas se sitúan en el día en los niños entre el 38.3 y el 43.7% y entre las niñas entre el 37.8 y el 43.9%, muy superiores a los encontrados en nuestro estudio y a las recomendaciones establecidas.

En el estudio de Failde y cols. (1997), la proporción de lípidos es elevada (39%). Los ácidos grasos saturados superan el nivel recomendado en el 100% de los escolares y la ingestión de hidratos de carbono y fibra es baja (46% y 15g/día).

Requejo y cols. (1994) encuentran un porcentaje de calorías aportado por los lípidos en el día superior al recomendado (40%). Donde también se supera los límites marcados como aconsejables en los ácidos grasos saturados (14%).

Nicklas y cols. (1993), en un estudio realizado sobre hábitos de consumo de 467 niños de 10 años de edad, encuentran que los niños que no toman el desayuno consumen mayor cantidad de energía en el almuerzo que los niños que sí lo hacen. La energía aportada por el almuerzo en el colegio de aquellos niños que toman desayuno (567 kcal), los gramos de proteínas (24,9), de carbohidratos (59,6) y de grasa (25,9) son menores a aquellos que no toman desayuno con 621 kcal, 25 g de proteínas, 65,7 g de carbohidratos y 28,9 g de grasa.

Para la fibra, en nuestro estudio, se han obtenido ingestas medias de 8 g. Según las recomendaciones, una cantidad en gramos/día igual a la edad en años más 5 se considera suficiente, por lo que, para los niños de 4 años sería 9 g/día y para los de 12 años de 17 g/día. Esta ingesta media respecto a la media de los distintos grupos de edad se considera que corresponde a un 61% de las ingestas recomendadas.

Requejo y cols. (1994) destacan la escasa ingesta de fibra durante el día, 16 g/día, en niños de más de 2 años y consideran que el escaso aporte se debe a un consumo insuficiente de cereales, frutas y verduras que afecta tanto a la población preescolar como a la escolar.

Para el sodio, en nuestro estudio, la ingesta media se sitúa en 461mg y la de potasio en 1065mg. Alvarez y cols. (1998) en el consumo medio diario de sodio, cuadruplican las necesidades mínimas estimadas en unos 500 mg y el potasio aporta el 30% de las ingestas recomendadas de 3500 mg/día.

Respecto a la ingesta de vitaminas y minerales en el comedor escolar, el aporte medio de calcio es de $199,28 \pm 106,23$ mg, lo que representa como media para cada grupo de edad y sexo (900 mg/día para los niños entre 4 y 12 años), el 22% de las ingestas recomendadas.

En el comedor escolar la ingesta media de hierro se sitúa en $5,72 \pm 3,13$ mg, cubriendo el 47% de las ingestas recomendadas en el colectivo estudiado de 4 a 12 años.

En el estudio de Requejo y cols. (1994) de un colectivo escolar de Madrid se encuentra que la ingesta de calcio diaria es menor a la aconsejada y el consumo de lácteos es algo inferior al encontrado en otras poblaciones europeas. Al igual ocurre en el trabajo de Failde (1997), donde el consumo de calcio y hierro en una población escolar de 344 niños, es inferior a las recomendaciones establecidas en algunos grupos de edad. También se observan deficiencias en calcio y exceso en hierro en el estudio de Álvarez y cols. (1998).

Fernández y cols. (1996) encuentran que el 61% del total de la ingesta de calcio proviene de la leche y derivados en los escolares de Madrid.

En el estudio de Caulfield y cols. (1995) se pone de manifiesto que la suplementación nutricional durante la infancia lleva a una buena mineralización ósea durante la adolescencia, con una mayor anchura y densidad mineral ósea.

Las ingestas medias de zinc, en nuestro estudio, están en $3,61 \pm 2,60$ mg, lo que representa el 12% de las ingestas recomendadas.

Requejo y cols. (1994) en el colectivo estudiado de 103 niños de 2 a 5 años y 210 de 9 a 13 años, encuentra que la ingesta de zinc diaria es inferior a la recomendada. En la encuesta de la población canaria por Sierra y Doreste (1990) el aporte de zinc diario es inferior en un 6% a lo recomendado.

Para el yodo, la ingesta media se sitúa en $11,23 \pm 7,88$ μ g, donde contribuye con un 11% a las ingestas medias recomendadas.

Se han observado ingestas muy bajas para la vitamina D (9%), al igual que lo observado en el estudio de Failde (1997) donde el consumo es inferior a las recomendaciones establecidas y en el estudio de Requejo (1994).

En nuestro estudio la ingesta de vitamina E es del 27% de las ingestas recomendadas.

La ingesta media de vitamina A satisface como media el 175% de las ingestas recomendadas en todos subgrupos de edad y sexo. Sin embargo, en los grupos varones de 10 a 12 años, las ingestas medias de este nutriente satisfacen el 87% de las ingestas recomendadas.

En el estudio de Johnson y cols. (1994) a escolares, muestran que las ingestas de vitamina A, vitamina E, calcio, hierro y zinc son inferiores a los valores recomendados.

Al comparar la ingesta de energía y nutrientes en el comedor escolar de diferentes estudios se observa como la ingesta energética es similar en los niños que participan en el Programa de Comedores Escolares de EEUU (753 kcal) y en los colegios de Gran Bretaña (711 kcal) y en los de nuestro estudio (706 kcal) (tabla 220).

Tabla 220. Comparación de la ingesta de energía y nutrientes en el comedor escolar en diferentes estudios.

NUTRIENTES	BOGALUSA ¹	NSLP ²	UK ³	BILBAO ⁴	NUESTRO ESTUDIO ⁵
Energía (kcal)	567	753	711	600	706
Proteínas (g)	25	31	19	24	32
Proteínas (%kcal)	18	17	11	17	19
Hidratos (g)	62	89	91	63	94
Hidratos (%kcal)	44	47	49	43	54
Lípidos (g)	25	31	33	30	23
Lípidos (%kcal)	40	38	40	40	28
AGS (g)	11	13		8	4
AGS (%kcal)	17	15		12	8,6
Colesterol (mg)	82	88		90	77
Sodio (mg)	1003	1479		580	461

1: Estudio de Bogalusa. Niklas, 1995. 2: National School Lunch Program (NSLP). Gordon et al, 1995. 3: The Diets of British Schoolchildren. HMSO, 1989. 4: Estudio de comedores escolares de Bilbao. Aranceta, 1996. 5: Nuestro estudio.

El reparto de la ración energética suministrada en los comedores americanos expresa una mayor contribución de las proteínas en comparación con Gran Bretaña, pero similar a la obtenida por nosotros.

Los aportes de hidratos de carbono en nuestro estudio (94 g) son similares a los obtenidos en los comedores británicos (91 g). La cantidad de lípidos aportada con el comedor escolar en el estudio de Bogalusa (25 g) es similar al nuestro (23 g).

Los menús de nuestro estudio contienen los menores aportes porcentuales de lípidos y las ingestas más bajas de ácidos grasos saturados, colesterol y sodio en relación con el resto de estudios consultados.

La ingesta media, en nuestro estudio, de vitamina D, vitamina E, yodo, calcio y zinc se sitúan por debajo del 30% de las ingestas recomendadas. Es de destacar el bajo contenido de vitamina D, ya que sólo aporta el 9% de las ingestas diarias recomendadas.

El porcentaje de calcio obtenido en nuestro estudio es del 22% de las ingestas recomendadas, algo superior al suministrado en los comedores de Bilbao (18%). Sin embargo, el aporte de zinc en este último es el doble (24%) al encontrado por nosotros (12%).

Los valores más altos se detectaron con la vitamina A (175% y 87%) y el hierro (47% de las ingestas recomendadas), mientras que en el estudio de Bogalusa el aporte de hierro es mucho menor (28%), y en el estudio de Bilbao sólo se aporta un 19% de vitamina A.

En general, en los sistemas de catering, la vitamina se afecta de forma muy importante. El sobrecalentamiento y el retraso prolongado entre calentamiento y consumo producen pérdida de valor nutritivo y disminución de la palatabilidad (Martínez, 1993).

El estudio realizado por Wolfe y Campbell (1993) para examinar el patrón de comida y la calidad de la dieta de niños de colegios elementales de Nueva York y determinar las características sociodemográficas correlacionadas con la calidad de la dieta, encuentran que los niños que toman el almuerzo del colegio comen más productos derivados de la leche, vegetales y frutas y menos snacks que aquellos que traen el almuerzo de su casa.

Nicklas y cols. (1994 y 1995) encuentran que el consumo de “cereales listos para comer” es una importante contribución de vitaminas y minerales en la ingesta diaria de niños de 10 años de edad. Los niños que consumen estos cereales en un período de 24 horas tienen una mayor ingesta de vitaminas A, B₆, B₁₂, D, tiamina,

niacina, folato, riboflavina y hierro que aquellos que no los consumen. También hay que tener en cuenta, que la leche es consumida a menudo con estos cereales y así podría ser una vía importante para aumentar la ingesta de calcio. En un 42% de los niños de 10 años se consumen estos cereales en el almuerzo, en un snack y en la cena.

El estudio de Jacas y cols. (1996) en una población de 1124 niños, comprendidos entre los 6 y 18 años de edad, encuentra que estos escolares siguen una dieta variada, pero no siempre equilibrada. Consumen muchas golosinas y bollería, mientras que sería conveniente mejorar el consumo de alimentos ricos en fibra, aumentando las ensaladas, la verdura cocida, el pan integral y las legumbres y, sin olvidar, la fruta fresca.

Nicklas y cols. (1993) encuentran que de 467 niños encuestados el 16% de ellos no desayunan. Varias investigaciones sugieren que la omisión del desayuno o uno inadecuado pueden ser factores que contribuyan en pérdidas nutricionales importantes y que raramente puede suplir con otras comidas durante el día. Así el promedio de ingesta total de energía fue significativamente más bajo para los niños que no tomaban desayuno (1821 kcal) y para los niños que lo tomaban en casa (2098 kcal), que para aquellos que lo tomaban en el colegio (2326 kcal).

También se puede mencionar que en los datos obtenidos experimentalmente (por análisis bromatológico) de platos cocinados con respecto a los calculados a partir de tablas de composición de alimentos, se observan diferencias significativas, que dependen de la preparación culinaria del plato (al disminuir o aumentar la concentración de los ingredientes) y del contenido en nutrientes de las materias primas (Candela, 1994).

Sería necesario prestar atención a la tarea que realizan los comedores escolares en la alimentación de los niños. Puede ser una solución a la falta de tiempo de los padres para preparar comidas, pero siempre que en estos comedores haya una supervisión de contenidos y formas por parte de especialistas. Las recomendaciones no deben dirigirse sólo a los escolares, sino también a los padres y educadores, sin la ayuda de los cuales el niño poco podrá hacer para mejorar su dieta (Jacas, 1996).

CONCLUSIONES

1. La calidad higiénico-sanitaria de los alimentos servidos en los comedores escolares de Tenerife es aceptable. Entre los parámetros estudiados los aerobios mesófilos y *Enterobacteriaceae* totales son los que con mayor superan los límites establecidos por la legislación vigente. Las muestras de ensaladas son las que mayor incumplimiento presentan en la totalidad de los parámetros estudiados.
2. En ninguna de las muestras analizadas se detecta la presencia de microorganismos de los géneros *Salmonella* y *Clostridium*.
3. No se obtienen diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados entre los comedores escolares de gestión directa y contratada.
4. En el recuento de aerobios mesófilos totales, en la gestión directa, no existen diferencias significativas entre platos de consumo en frío y calientes. En los alimentos que se consumen calientes, los segundos platos presentan mayor número de muestras consideradas no aptas, por superar los límites microbiológicos, que los primeros y complementos. No se obtienen diferencias significativas entre los distintos alimentos fríos (ensaladas, segundos platos y complementos), si bien los recuentos en todos los casos son elevados.
5. En la gestión contratada, destaca el elevado recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales en las ensaladas, diferencia que es significativa en relación con los primeros, segundos platos y complementos.
6. Los platos que se consumen fríos presentan mayor número de muestras no aptas en el recuento de *Enterobacteriaceae* totales que los que se consumen calientes,

en ambos los segundos platos presentan mayor número de muestras no aptas que los primeros. No se obtienen diferencias en los complementos con respecto a los primeros y segundos platos. Entre los fríos, las ensaladas presentan elevados recuentos de enterobacterias y muestran diferencias significativas con los complementos y segundos platos.

7. En la gestión contratada, destaca el elevado recuento de *Enterobacteriaceae* totales en las ensaladas, diferencia que es significativa en relación con los primeros, segundos platos y complementos. Los segundos platos presentan recuentos más elevados que los primeros.
8. Para el recuento de coliformes fecales, en la gestión directa, los platos que se consumen fríos presentan mayor número de muestras no aptas, siendo esta diferencia significativa. En los alimentos que se consumen calientes, los segundos platos presentan niveles significativamente más elevados que los primeros y complementos. Entre los fríos, las ensaladas presentan recuentos elevados, con diferencias significativas con los complementos y segundos platos.
9. En la gestión contratada, destaca el elevado recuento de coliformes fecales en las ensaladas, diferencia que es significativa en relación con los primeros, segundos platos y complementos. Los segundos platos presentan recuentos más elevados que los primeros.
10. En los platos calientes de gestión directa, la especie más aislada es *E. aerogenes*, seguida de *E. cloacae*. *E. coli* se aísla sólo en un caso. En los platos fríos, por el contrario, se aísla un mayor número de coliformes fecales, donde *E. coli* es la especie predominante, seguida de *E. aerogenes*, *E. cloacae* y *K. ozonae*. En

gestión contratada, *E. coli* es también la especie predominante seguida de *E. aerogenes* y *E. cloacae*.

- 11.** En el recuento de *E. coli*, en la gestión directa, los platos que se consumen fríos presentan un número de muestras no aptas bajo, si bien es mayor que en los calientes, siendo esta diferencia significativa. En los alimentos que se consumen calientes no existen diferencias entre los distintos platos y lo mismo ocurre entre los fríos. En la gestión contratada, resalta el elevado recuento de *E. coli* en las ensaladas, diferencia que es significativa en relación con los primeros platos y segundos y complementos.
- 12.** Los platos que se consumen fríos, con relación a *S. aureus*, en la gestión directa, presentan mayores niveles de contaminación que los calientes, siendo esta diferencia significativa. En gestión contratada, no se aísla este microorganismo.
- 13.** En la gestión directa, los platos que se consumen fríos presentan mayor número de muestras no aptas que los calientes en relación con *Enterococcus spp*, siendo esta diferencia significativa. Entre los platos que se consumen calientes y fríos no existen diferencias. En la gestión contratada, las ensaladas presentan diferencias significativas de contaminación con los primeros platos.
- 14.** En los colegios de gestión directa, en relación con el análisis de peligros y puntos de control críticos, destaca la falta de utensilios necesarios para un adecuado lavado y secado de manos y la existencia de un inadecuado mantenimiento de los platos calientes. En la gestión contratada, cabe destacar el déficit en la dotación de los lavamanos en los comedores escolares.

- 15.** Los aportes de energía suministrados en el comedor escolar son adecuados según las recomendaciones nutricionales aplicadas. En los principios inmediatos, los aportes proteicos son algo elevados en relación con los recomendados, los aportes de calorías de origen lipídico están dentro de los límites y los suministrados por los carbohidratos se encuentran en el límite inferior.

- 16.** El aporte de energía suministrado por los ácidos grasos saturados, poliinsaturados y monoinsaturados está dentro de los valores recomendados, así como los niveles de colesterol.

- 17.** El aporte de fibras, yodo, zinc y vitaminas D y E suministrado por el menú escolar es deficitario, y adecuado el de hierro y vitamina A.

BIBLIOGRAFÍA

- Agostini A, Arango J, Yaafar M y López C. Calidad microbiológica final de comidas preparadas en comedores comunitarios. *Aliment* 1997; Jul- Ago: 45-48.
- Alvarez ME, Lage MA, Carril ST y López TJ. Evaluación del aporte calórico, composición lipídica y colesterol de los menús ofertados en un comedor escolar compostelano. *Aliment* 1996; Dic: 69-70.
- Alvarez ME, Lage MA, López TJ, Carril ST y Lijó R. Aporte de nutrientes calóricos, vitaminas y minerales en las dietas de un colectivo de estudiantes. *Aliment* 1998; Mar: 27-30.
- Andradas V y Fernández M^a I. Hábitos de salud de los escolares de una zona periurbana de Madrid. *Rev San Hig Púb* 1994; 68: 203-212.
- Aranceta J y Pérez C. Consumo de alimentos y estado nutricional de la población escolar de Bilbao. Área de Salud y Consumo, Ayuntamiento de Bilbao. 1996.
- Aranceta J, Pérez C, Viladrich M, Gondra J, Delgado A. Organización y pautas nutricionales en comedores escolares de colegios públicos de Bilbao. En: Sáenz J, González L, Goiriena JJ. Problemas de la nutrición en los países desarrollados. Barcelona: Salvat Editores, 1988: 251-57.
- Aranceta J, Pérez C, Viladrich M, Santolaya J. Evaluación de una campaña de promoción del desayuno en el medio escolar. *Arch Pediatr* 1989; 40: 25-8.
- Aranceta J, Santolaya J, Gondra J, Delgado A. Evaluación de consumo y de hábitos alimentarios en los comedores escolares de colegios públicos de la Villa de Bilbao. *Arch Pediat* 1986; 37: 523-34.
- Aranceta J. El Comedor Escolar: Salud, Docencia y Servicio. 1993. *Caternews* 7; 19-42.
- Aranceta J. Nutrición en la edad evolutiva. En: Serra L, Aranceta J y Mataix J. Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones. Barcelona: Editorial Masson, 1995: 185-192.
- Aranceta J. Programa de Vigilancia Nutricional en Comedores Escolares de la Villa de Bilbao. La restauración colectiva en el medio escolar. 1992. *Caternews*, 4: 48-51.
- Aranceta J. Tendencias de consumo, hábitos alimentarios y estado nutricional de la población escolar de Bilbao. Tesis doctoral. Universidad del País Vasco. 1988. Bilbao.
- Arias C, Blanco N, Rodríguez A, Tardón A y Cueto A. Condiciones higiénico-sanitarias de comedores escolares del municipio de Oviedo. *Rev Esp Salud Pública* 1998; 72: 571-581.
- Armas A, Hernández A, Morales A, Castell S y González L. Estudio de la población escolar del Puerto de la Cruz, en relación con el consumo de alimentos y los hábitos de salud. *Rev Esp Nutr Comunitaria* 1998; 4(3): 130-132.

- Arnedo A, González F, Bellido J, Marti J, Safont L y Calvo C. Brote de toxiinfección alimentaria de probable etiología vírica por virus Norwalk. *Gac Sanit* 1991; 25: 169-173.
- Arranz A, Pérez-Melero D y Escoín C. Calidad sanitaria de tapas de bares en época estival. *Aliment* 1995; Sep: 73-77.
- Astiasarán I, Peña MP y Cid C. Control de calidad en el servicio de catering: alimentos *cook-chill*. *Aliment* 1995; Nov: 71-76.
- Aznar F y Linares M. Estudio de la situación higiénico-sanitaria de comedores escolares en Alicante. *Aliment* 1986; Jul-Ago: 61-4.
- Belcher J, Ellison C, Shepard E, Bigelow C, Webber L, Wilmore J, Parcel G, Zucker D y Luepker R. Lipid and Lipoprotein Distributions in Children by Ethnic Group, Gender, and Geographic Location – Preliminary Findings of the Child and Adolescent Trial for Cardiovascular Health (CATCH). *Preventive Medicine* 1993; 22: 143-153.
- Bell C y Kyriakides A. *E. coli*. Una aproximación práctica al microorganismo y su control en los alimentos. Zaragoza: Editorial Acribia. 1998.
- Benezet A, De la Osa JM, Botas M, Olmo N y Flórez FP. Estudio sobre análisis de riesgos e investigación y control de puntos críticos (ARICPC) en una industria de productos cárnicos. *Aliment* 1993; Ago: 61-4.
- Bleck T. *Clostridium botulinum*. En: Mandell, Douglas y Bennet. Enfermedades infecciosas: principios y práctica. 4ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1997; 223(II): 2442-46.
- Board, R.G. Introducción a la microbiología moderna de los alimentos. Zaragoza: Editorial Acribia, 1988.
- Boletín Oficial del Estado. Decreto 2484/67, 21 de septiembre. Código Alimentario Español.
- Boletín Oficial del Estado. Decreto 2519/74, 9 de agosto. De la entrada en vigor, aplicación y desarrollo; regulación de la Comisión Interministerial para la ordenación alimentaria.
- Boletín Oficial del Estado nº 59. Orden de 21 de febrero de 1977 sobre Normas higiénico-sanitarias para la instalación y funcionamiento de industrias dedicadas a la preparación y distribución de comidas para consumo en colectividades y medios de transporte.
- Boletín Oficial del Estado nº 4. Resolución de la Dirección General de la Salud Pública y Sanidad Veterinaria por la que se desarrolla la Orden de 24 de octubre de 1978 que aprobó el Reglamento sobre Vigilancia, Control e Inspección Sanitaria de Comedores Colectivos.

- Boletín Oficial del Estado nº 168. Real Decreto 1945/1983, de 22 de junio, por el que se regulan las infracciones y sanciones en materia de defensa del consumidor y de la producción agro-alimentaria.
- Boletín Oficial del Estado nº 225. Real Decreto 2505/1983, de 4 de agosto, por el que se aprueba el Reglamento de Manipuladores de Alimentos.
- Boletín Oficial del Estado nº 167. Real Decreto 2817/1983, de 13 de octubre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria de los Comedores Colectivos.
- Boletín Oficial del Estado nº 294. Orden de 24 de noviembre de 1992 por la que se regulan los comedores escolares.
- Boletín Oficial del Estado nº 36. RD 50/1993, de 15 de enero, por el que se regula el control oficial de los productos alimenticios.
- Boletín Oficial del Estado nº 244. Orden de 30 de septiembre de 1993 por la que se modifica parcialmente la de 24 de noviembre de 1992, reguladora de los comedores escolares.
- Boletín Oficial del Estado nº 50. Real Decreto 2207/1995, de 28 de diciembre, por el que se establece las normas de higiene relativas a los productos alimenticios.
- Boletín Epidemiológico Semanal del Ministerio de Sanidad y Consumo. Volúmenes años 1990-96.
- Boletín Oficial del Estado nº 48. Real Decreto 202/2000, de 11 de febrero, por el que se establecen las normas relativas a los manipuladores de alimentos.
- Bourgeois CM, Mescle Bourgeois CM, Mescle JF, Zucca J. Microbiología Alimentaria. Volumen I. Zaragoza: Editorial Acribia, 1994.
- Brücker G y Astagneau P. Épidémiologie des infections et toxi-infections collectives d'origine alimentaire ou hydrique. La Revue du Praticien 1994; 44: 2379-2384.
- Bryan F. Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) Systems for Retail Food and Restaurant Operations. J Food Prot 1990; 53(11): 978-983.
- Bryan F. Evaluación por análisis de peligros en puntos críticos de control. Ginebra: OMS. 1992.
- Buisson Y. Toxi-infections alimentaires collectives : L'enquête épidémiologique. Ann Gastroentérol Hépatol 1992; 28(6-7): 268-73.
- Calañas A. Problemas nutricionales de las sociedades desarrolladas. En: Vázquez C, De Cos AI y López-Nomdedeu C. Alimentación y nutrición. Manual teórico-práctico. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1998; 19: 209-221.
- Candela M, Alvarez S, Gel R, Vázquez C y Astiasarán I. Valor nutritivo de platos cocinados por servicios de restauración colectiva. Aliment 1994; Abr: 21-25.

- Cañizal M. La restauración fuera del hogar. Madrid: Editorial Mundi-Prensa. 1996.
- Caro MR y Cuello F. Investigación de la calidad microbiológica de alimentos con ingredientes críticos suministrados en comedores universitarios. *An Vet* 1988; 4: 3-6.
- Caro MR, Salinas L, Polo LM y Cuello F. Presencia de microorganismos contaminantes en alimentos suministrados en comedores estudiantiles. *Med Vet* 1992; 9 (11): 660-667.
- Casado M^aR, Casado I y Díaz GJ. La alimentación de los escolares de trece años del municipio de Zaragoza. *Rev Esp Salud Pública* 1999; 73(4): 501-10.
- Caulfield L, Himes J y Rivera J. Nutritional Supplementation During Early Childhood and Bone Mineralization During Adolescence. *J Nutr* 1995; 125: 1104S-1110S.
- Centrich Sureda M. Adulteraciones alimentarias. Contaminación de alimentos. En : Hernández Rodríguez M y Sastre Gallego A. Tratado de Nutrición. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1999; 32: 475-489.
- CESNID. Restauración colectiva. Planificación de instalaciones, locales y equipamientos. Barcelona: Editorial Masson, 1999.
- Clandinin MT, Chappell JE, Acorde JE. Requirements of newborn infants for long chain polyunsaturated fatty acids. *Acta Paediatr Scand* 1989; (Suppl) 351:63-71.
- Concon J. M. Food toxicology. Part B: Contaminants and additives. Marcel Dekker, Inc 1988.
- Control higiénico-sanitario de las industrias alimentarias, sistema ARICPC-HACCP. Colegio Oficial de Veterinarios de Las Palmas de Gran Canaria. 1996.
- Crockett S, Sims L. Environmental Influences on Children's Eating. *JNE* 1995; 27: 235-49.
- Cuq, J-L, Guiraud J y Navarro J-M. Microbiología alimentaria. En: Dupin H, Cuq J-L, Malekiak M-I, Leynaud-Rouaud C y Berthier A-M. La alimentación humana. Barcelona: Editorial Bellaterra, 1997.
- Davis B, Dulbeco R, Eisen H y Ginsberg H. Tratado de Microbiología. 4^a edición. Barcelona: Editorial Masson, 1996.
- De Cos, AI y Gómez C. Lípidos. En: Vázquez C, De Cos AI y López-Nomdedeu C. Alimentación y nutrición. Manual teórico-práctico. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1998; 2: 17-25.
- Del Rey J. Salud preescolar y escolar. En: Piédrola G, Domínguez M, del Rey J et al. Medicina Preventiva y Salud Pública. 9^o Edición. Barcelona: Editores Masson-Salvat Medicina, 1991; 72: 1128-47.

- Department of Health, Sub-Committee on Nutritional Surveillance. Committee on Medical Aspects of Food Policy. The diets of British schoolchildren. Her Majesty's Stationery Office. London.
- Deschamps, J-P y Dupin H. Los niños y los adolescentes. En: Dupin H, Cuq J-L, Malekiak M-I, Leynaud-Rouaud C y Berthier A-M. La alimentación humana. Barcelona: Editorial Bellaterra, 1997.
- Doyle M. A new generation of foodborne pathogens. Dairy, Food and Environmental Sanitation, 1992; 12 (8): 490-493.
- Dupin H, Cuq J-L, Malekiak M-I, Leynaud-Rouaud C y Berthier A-M. La alimentación humana. Barcelona: Editorial Bellaterra, 1997.
- Eisentein B. Enterobacterias. En: Mandell, Douglas y Bennet. Enfermedades infecciosas: principios y práctica. 4ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1997; 196(II): 2199-2216.
- Eley R. Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana. Zaragoza: Editorial Acribia, 1992.
- Estévez P y Armas A. El desayuno de los escolares canarios. Consejería de Sanidad y Asuntos Sociales del Gobierno de Canarias y Dirección general de Salud Pública 1994.
- Fábrega A y Forcadell ML. Estudio microbiológico de platos preparados congelados de venta a granel. Aliment 1992; Ene-Feb: 61-68.
- Fábrega A, Alvarez MS, Mullor A, Bardají JM y Juste ML. Aplicación de programas de ARICPC en comedores colectivos y comercios minoristas de alimentación. Aliment 1997; Jul-Ago: 35-37.
- Failde I, Zafra JA, Ruiz E y Novalbos JP. Valoración de la alimentación de los escolares de una población de la Sierra de Cádiz (Ubrique). Med Clin 1997; 108: 254-258.
- FAO/OMS. Higiene de los alimentos. Textos básicos. Roma. 1999.
- FAO/WHO Expert Committee. Fats and oils in Human Nutrition. Food and Nutrition Paper No. 57. FAO, Rome, Italy. 1994.
- Fernández C, López T, Martínez M, Barrrenechea MA, De Cos AI, Cilleruelo ML y Vázquez C. El consumo de lácteos y su contribución en la dieta de los escolares de la comunidad de Madrid. An Esp Pediatr 1996; 44(3): 214-8.
- Fernández-Crehuet J y Pinedo A. Otras infecciones entéricas de origen bacteriano y vírico. En: Piédrola G, Domínguez M, del Rey J y cols. Medicina Preventiva y Salud Pública. 9ª Edición. Barcelona: Editores Masson-Salvat Medicina, 1991. 33: 415-29.
- Fernández-Crehuet J, Pinedo A y Gómez E. Toxiinfecciones alimentarias de origen bacteriano. En : Piédrola G, Domínguez M, del Rey J y cols. Medicina

- Preventiva y Salud Pública. 9ª edición. Barcelona: Editores Masson-Salvat Medicina, 1991; 34: 430-50.
- Fernández K, Carpintero JL, Puchades M^aJ, Verde M^aC y García C. Investigación de dos brotes de toxiinfección alimentaria en Mora (Toledo) con una fuente de infección común. *Rev San Hig Púb* 1994; 68: 589-595.
- Ferrer MD, De Simón M y Tarragó C. Presencia de bacterias patógenas en alimentos preparados cocinados. *Aliment* 1992; Ene-Feb: 69-70.
- F.I.A.B.(Federación Española de Industrias de la Alimentación y Bebidas).Aplicación del sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos en platos preparados (otros platos). Madrid. Ministerio de Sanidad y Consumo, Dirección General de Salud Pública.
- Flahaut S, Boutibonnes P et Auffray Y. Les entérocoques dans l'environnement proche de l'homme. *Can J Microbiol* 43: 699-708 (1997).
- Frazier WC, Westhoff DC. Microbiología de los alimentos. 4ª edición. Zaragoza: Editorial Acribia, 1993.
- Gargallo Fernández MA. La dieta equilibrada. Los siete grupos de alimentos. En: Vázquez C, De Cos AI y López-Nomdedeu C. Alimentación y nutrición. Manual teórico-práctico. Madrid: Editores Díaz de Santos, 1998; 7: 65-77.
- Ghirotti M, Griffiths RB, Cagnolati V y Mantovani A. New patterns and control of food-borne infections in industrialized countries. *Ann Ig* 1990; 2: 103-108.
- Gómez C y Hernández JA. Recomendaciones nutricionales. En: Vázquez C, De Cos AI y López-Nomdedeu C. Alimentación y nutrición. Manual teórico-práctico. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1998; 15: 155-174.
- Gordon A, Devanet B, Burghardt J. Dietary effects of the National School Lunch Program and the School Breakfast Program. *Am J Clin Nutr*, 1995; 61(suppl): 221S-231S.
- Gordon A, McKinney P. Sources of nutrients in students' diets. *Am J Clin Nutr*, 1995; 61(suppl): 232S-240S.
- Gorgojo L, Guallar E, Martín-Moreno JM, López-Nomdedeu C, Vázquez C, Martí-Henneberg C y Serrano-Ríos M. Encuestas alimentarias en los niños españoles de edad escolar: análisis del período 1984-1994. *Med Clin* 1999; 112: 368-374.
- Guerrant R. Enteritis inflamatorias. En: Mandell, Douglas y Bennet. Enfermedades infecciosas: principios y práctica. 4ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1997; 79(I): 1100-12.
- Guerrant R. Principios y síndromes de infección entérica. En: Mandell, Douglas y Bennet. Enfermedades infecciosas: principios y práctica. 4ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1997; 75(I): 1051-70.

- Hatakka M. Salmonella Outbreak among Railway and Airline Passengers. *Acta vet scand* 1992; 33: 253-260.
- Hedberg C, MacDonald K y Osterholm M. Changing Epidemiology of Food- Borne Disease: A Minnesota Perspective. *Clin Infect Dis* 1994; 18: 671-82.
- Hernández A, Durá A, Maestre J. Estudio de los comedores escolares de Elda. *Técnicas de Laboratorio*, 1988; 11(145): 384-8.
- Hernández M. Alimentación en la primera infancia. En : Hernández Rodríguez M y Sastre Gallego A. *Tratado de Nutrición*. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1999; 52:809-829.
- Hernández M. Alimentación del niño durante la edad escolar. En : Hernández Rodríguez M y Sastre Gallego A. *Tratado de Nutrición*. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1999; 53:831-835.
- Hernández Rodríguez M. Alimentación y problemas nutricionales en la adolescencia. En : Hernández Rodríguez M y Sastre Gallego A. *Tratado de Nutrición*. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1999; 54:837-854.
- Hernández Rodríguez M. Alimentación infantil. 2ª edición. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1999.
- Herrera A y Conchello P. La cadena alimentaria como riesgo para la salud pública. En : Hernández Rodríguez M y Sastre Gallego A. *Tratado de Nutrición*. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1999; 34: 503-541.
- Hewlett E. Toxinas y otros factores de virulencia. En: Mandell, Douglas y Bennet. *Enfermedades infecciosas: principios y práctica*. 4ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1997; 1(I): 2-12.
- Hobbs B y Roberts D. Higiene y toxicología de los alimentos. Zaragoza: Editorial Acribia, 1993.
- Hubert B y Rufat P. Les études cas-témoins dans l'investigation des toxi-infections alimentaires colectives. Etude de leur utilisation en France en 1989. *Rev Epidém et Santé Publ* 1992; 40: 156-163.
- Ibáñez J, García D, Escudero R y Munuera I. *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico: identificación en platos de comedores colectivos. *Aliment* 1994; Nov: 35-6.
- ICMSF. Microorganismos de los alimentos 1. Técnicas de análisis microbiológico. Zaragoza: Editorial Acribia, 1980.
- ICMSF. El sistema de análisis de riesgos y puntos críticos: su aplicación a las industrias de alimentos. Zaragoza: Editorial Acribia, 1988.
- ICMSF. Microorganismos de los alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: principios y aplicaciones específicas. 2ª edición. Zaragoza: Editorial Acribia, 1999.

- ICMSF. Microorganismos de los alimentos 1. Su significado y métodos de enumeración. 2ª edición. Zaragoza: Editorial Acribia, 2000.
- ICMSF. Microorganismos de los alimentos. Características de los patógenos microbianos. Zaragoza: Editorial Acribia, 1996.
- Irigoyen A y García-Jalón I. Estudio higiénico y establecimiento de puntos de control críticos en comedores colectivos. *Aliment* 1992; Abr: 45-8.
- Jacas M, Alvarez MS, Mateos L y Juste ML. El ARICPC aplicado a comedores colectivos. *Aliment* 1997; Ene- Feb: 65-69.
- Jacas M, Ramon JM y Serra M. Estudio sobre los hábitos alimentarios de un grupo de escolares de una población costera catalana. *Rev Esp Nutr Comunitaria* 1996; 2(1): 17-24.
- Jay, J.M. Microbiología moderna de los alimentos. Zaragoza: Editorial Acribia, 1981.
- Johnson R, Guthrie H, Smiciklas H y Wang MQ. Characterizing Nutrient Intakes of Children by sociodemographic Factors. *Pub Health Reports* 1994; 109(3): 414-420.
- Jurado-Pérez R, Pérez-Aparicio J, De la Torre R, Alonso R, Martínez A, Morales E y Hernández-Bienes M. Calidad microbiológica de platos en comedores colectivos. *Aliment* 1999; Jul-Ago: 35-40.
- Kaku M, Peresi JTM, Tavechio AT, Fernandes SA, Batista AB, Castanheira IAZ, Garcia GMP, Irino K y Gelli DS. Surto alimentar por Salmonella Enteritidis no Noroeste do Estado de Sao Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública* 1995; 29(2): 127-31.
- Keys A. Mediterranean diet and public health: personal reflections. *Am J Clin Nutr* 1995; 61 (supl): 1321S-3S.
- Kuehl K, Cockerham J, Hitchings M, Slater D, Nixon G y Rifai N. Effective Control of Hypercholesterolemia in Children with Dietary Interventions Based in Pediatric Practice. *Preventive Medicine*.
- León M^aC, Burgos A, Hernández-Velázquez A y Hardisson A. Alimentación, nutrición y salud. *Aliment* 1996; Dic: 29-39.
- León F. HACCP: ¿ARICPC o CEPSAMEC? Crítica a los “puntos críticos”. *Aliment* 1996; Mar: 19-22.
- Levine W, Smart J, Archer D, Bean N y Tauxe R. Foodborne Disease Outbreaks in Nursing Homes, 1975 Through 1987. *JAMA* 1991; 266 (15): 2105-2109.
- Lloret I, Furió JL y Montes LE. Principios de higiene para el diseño de cocinas de comedores colectivos. *Aliment* 1997; Ene-Febr: 109-113.

- López García, JL. Calidad alimentaria: riesgos y controles en la agroindustria. Madrid: Editorial Mundi-Prensa, 1999.
- López-Nomdedeu C. La cadena alimentaria. En: Vázquez C, De Cos AI y López-Nomdedeu C. Alimentación y nutrición. Manual teórico-práctico. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1998; 6: 61-64.
- Lytle L, Nickaman M, Obarzanek E, Glosky E, Montgomery D, Nicklas T, Zive M y Feldman H. Validation of 24-hour recalls assisted by food records in third-grade children. *J Am Diet Assoc* 1993; 93: 1431-1436.
- Mac Faddin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana. 1980.
- Manual OXOID 4ª edición. 1981.
- Marchini S, Rodrigues M, Cunha S, Fausto A, Vannucchi H y Dutra JE. Cálculo das recomendações de ingestão proteica: aplicação a pré-escolar, escolar e adulto utilizando alimentos brasileiros. *Rev Saúde Pública* 1994; 28(2): 146-52.
- Margall N, Domínguez A, Prats G y Salleras Ll. *Escherichia coli* enterohemorrágica. *Rev Esp Salud Pública* 1997; 71: 437-443.
- Martínez JR. Restauración colectiva y dieta saludable. *Rev Esp Nutr Comunitaria* 1993; 169-74.
- Massa C e Izquierdo JM. Calidad microbiológica de tapas servidas por establecimientos de restauración en diversos municipios de Cataluña. *Aliment* 1994; Abr: 71-4.
- Mataix J. Nutrientes y sus funciones. En: Serra Ll, Aranceta J y Mataix J. Nutrición y Salud Pública. Barcelona: Editorial Masson S.A., 1995.
- McGinnis M. The Year 2000 Initiative: Implications for Comprehensive School Health. *Preventive Medicine* 1993; 22: 493-498.
- Merelles T, Costa AM, Sánchez AM y Ruano L. La educación nutricional desde la atención primaria. En: Vázquez C, De Cos AI y López-Nomdedeu C. Alimentación y nutrición. Manual teórico-práctico. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1998; 25: 273-283.
- Michel C, Cyr R and Carbonneau M. L'impact d'un service alimentaire en milieu scolaire sur la qualité de l'alimentation des enfants. *Can J Pub Health* 1994; 85 (2): 110-14.
- Miller S, Hohmann E y Pegues D. Salmonelas. En: Mandell, Douglas y Bennet. Enfermedades infecciosas: principios y práctica. 4ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1997; 200(II): 2254-76.
- Moreno B. Aplicación del sistema ARICPC en la industria alimentaria: análisis de riesgos, identificación, valores de referencia y comprobación de los puntos críticos de control. *Aliment* 1994; Oct: 19-27.

- Moreno B. Aplicación del sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos a los riesgos o peligros químicos y físicos. *Aliment* 1994; Oct: 29-33.
- Moreno B. El autocontrol y el sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos en las industrias de alimentos: los plazos para su implantación finalizan. *Aliment* 1996; Mar: 27-31.
- Moreno B. El sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos: un camino hacia sistemas de calidad más generales (ISO 9000). *Aliment* 1996; Dic: 19-27.
- Moreno B, García López ML, Otero A y García Fernández MC. El sistema de análisis de riesgos y puntos críticos: su introducción en las industrias de alimentos en los años 90. *Aliment* 1992; Mar: 19-27.
- Moreno P, Pla S, Fagoaga F, Torregrosa A y García M. Análisis microbiológico de comidas servidas en comedores colectivos. *Aliment* 1996; Jun: 19-23.
- Mossel DA, Moreno García B. *Microbiología de los Alimentos*. 1ª edición. Zaragoza: Editorial Acribia, 1985.
- Mouffok F, Lebres E y Makhlof B. Qualité bacteriologique des plats cuisines en restauration collective. *Arch Inst Pasteur Algérie* 1992; 58: 247-254.
- Munuera I, Aguilar JL, Escudero R e Ibáñez JJ. Competencias del laboratorio municipal de Sevilla en el Programa de Salud Alimentaria de EXPO'92. *Aliment* 1993; Jul-Ago: 51-55.
- Murray P, Kobayashi G, Pfaller M y Rosenthal K. *Microbiología médica*. 2ª edición. Madrid: Harcourt Brace, 1996.
- Negra T, Fábrega A, Juste L y Armengou JM. Vigilancia sanitaria en restauración social. *Aliment* 1993; Jul-Ago: 57-60.
- Nicklas TA, Bao W, Webber L and Berenson G. Breakfast consumption affects adequacy of total daily intake in children. *J Am Diet Assoc* 1993; 93: 886-91.
- Nicklas TA. Dietary Studies of Children and Young Adults (1973-1988): The Bogalusa Heart Study. *Am J Med Sci* 1995; 310(supl 1): S101-S108.
- Nicklas TA, Myers L and Berenson G. Impact of ready-to-eat cereal consumption on total dietary intake of children: The Bogalusa Heart Study. *J Am Diet Assoc* 1994; 94(3): 316-318.
- Nicklas TA, Myers L and Berenson G. Total Nutrient Intake and Ready-to-Eat Cereal Consumption of Children and Young Adults in the Bogalusa Heart Study. *Nutrition Reviews* 1995; 53(9): S39-S45.
- Nicklas TA, Webber L, Johnson C, Srinivasan S y Berenson G. Foundations for Health Promotion With Youth: A Review of Observations from the Bogalusa Heart Study. *J Health Education* 1995; 26(2): S18-S26.

- Notermans S y Hoogenboom-Verdegaal A. Existing and emerging foodborne diseases. *Int J Food Microbiol* 1992; 15: 197-205.
- Nurmi E y Hirn J. Integration of Hygiene into Food Technology. *Bibl Nutr Diet* 1990; 47: 12-18.
- Palacios G, J M^a. Pautas de higiene en restauración colectiva. Gobierno de Canarias. Consejería de Sanidad y Consumo. 1998.
- Pañella H, Plasencia A, Sanz M y Cayla JA. Evaluación del sistema de vigilancia epidemiológica de enfermedades infecciosas en los juegos olímpicos de Barcelona 1992. *Gac Sanit* 1995; 9: 84-90.
- Pascual M^a R. Botulismo. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1994.
- Pascual M^a R. Microbiología alimentaria. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1992.
- Pascual M^a R y Calderón V. Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. 2^a edición. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1999.
- Pena G, Fernández-Crehuet MN, Villanueva T y Vázquez MA. Hábitos alimentarios en la población escolar de áreas rurales. *Aten Primaria* 1996; 18(8): 452-6.
- Pérez-Llamas F, Zamora S, Murcia MA, Muñoz A y Quiñones E. Estudio bromatológico, nutricional y sociológico en los centros de restauración colectiva de la universidad de Murcia. *Aliment* 1993; Ene-Febr: 89-93.
- Pérez-Silva MC, Belmonte S y Martínez J. Estudio microbiológico de los alimentos elaborados en comedores colectivos de alto riesgo. *Rev Esp Salud Pública* 1998; 72: 67-75.
- Pérula LA, Herrera E, De Miguel M^aD y Lora N. Hábitos alimentarios de los escolares de una zona básica de salud de Córdoba. *Rev Esp Salud Pública* 1998; 72: 147-150.
- Pollit E. Does breakfast make difference in school? *J Am Diet Assoc* 1995; 95: 1134-1139.
- Potter M. The changing face of foodborne disease. *JAVMA* 1992; 201 (2): 250-2.
- Powell SC and Attwell R. A comparative study of food retail premises by means of visual inspection and microbiological quality of food. *Epidemiol. Infect*, 1995; 114: 143-151.
- Programa de control de brotes epidémicos de origen hídrico y alimentario. Gobierno de Canarias. Dirección General de Salud Pública. 1998.
- Programa Force. Guía de prácticas correctas en materia de higiene para la restauración colectiva.

- Reguera JI, Pérez R, Hardisson A, Sánchez C, Llorente J, González Z, Prats G y Rodríguez A. Microbiología ambiental en salas de preparación de alimentos de comedores colectivos. *Aliment* 1993; Oct: 31-34.
- Requejo AM, Ortega RM y Rivas T. Estado nutritivo en colectivos escolares madrileños. Departamento de Nutrición, Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense. Madrid. 1994.
- Riba-Sicart M, Hernández MM, Rodríguez-Jerez JJ y Mora-Ventura MT. Calidad higiénico-sanitaria de los alimentos servidos en comedores universitarios. *Aliment* 1997; Jul-Ago: 39-43.
- Riba-Sicart M, Roig-Sagués A, Hernández-Herrero MM, Rodríguez-Jerez JJ y Mora-Ventura MT. Calidad higiénico-sanitaria de las ensaladas servidas en comedores universitarios. *Aliment* 1998; Nov: 63-65.
- Richards M, Rittman M, Gilbert T, Opal S, DeBuono B, Neil R and Gemski P. Investigation of a *Salmonella* food poisoning outbreak in a centralized school lunch program. *Public Health Reports* 1993; 108(6): 765-71.
- Rivero M y Sedano E. Educación nutricional. En: Nutrición y dietética. Aspectos sanitarios. Madrid: Editorial Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 1993; 29 (2): 1045-67.
- Roberts D, Hooper W y Greenwood M. Microbiología práctica de los alimentos. Zaragoza: Editorial Acribia, 1995.
- Román E y Cilleruelo ML. Alimentación del niño y del adolescente. En: Vázquez C, De Cos AI y López-Nomdedeu C. Alimentación y nutrición. Manual teórico-práctico. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1998; 16: 175-192.
- Ruano I y Serra M^a E. Hábitos de vida en una población escolar de Mataró (Barcelona) asociados al número de veces diarias que se ve televisión y al consumo de azúcares. *Rev Esp Salud Pública* 1997; 71: 487-498.
- Rydell A-M, Dahl M y Sundelin C. Characteristic of School Children Who Are Choosy Eaters. *J Gen Psychology* 1994; 156(2): 217-229.
- Salvat G y Colin P. Cleaning and disinfection practice in the meat industries of Europe. *Rev sci tech Off int Epiz* 1995; 14(2): 329-341.
- Sánchez C, Soldevilla A, Martín R y Sanz B. Estudio de las condiciones higiénico-sanitarias de los establecimientos dedicados a la preparación de platos preparados en el municipio de Madrid. *Aliment* 1992; Ene-Febr: 55-60.
- Serra LI, Aranceta J y Mataix J. Documento de consenso. Guías alimentarias para la población española. SG editores e instituto español de la nutrición, 1995.
- Serra LI, Aranceta J y Mataix J. Nutrición y Salud Pública. Barcelona: Editorial Masson S.A, 1995.

- Sierra A y Doreste JL. La nutrición de la población canaria. *Aliment* 1990; May: 31-36.
- Simango C. Isolation of *Escherichia coli* in foods. *Central African Journal of Medicine* 1995; 41(6): 181-185.
- Sinell H-J. Control of food-borne infections and intoxications. *Int J Food Microbiol* 1995; 25: 209-217.
- Smith, L. *Botulismo*. Zaragoza: Editorial Acribia, 1980.
- Snyder P, Obarzanek E, Montgomery D, Feldman H, Nicklas T, Raizman D, Rupp J, Bigelow C y Lakatos E. Reducing the fat content of ground beef in a school foodservice setting. *J Am Diet Assoc* 1994; 94: 1135-1139.
- Snyder P, Story M y Lytle L. Reducing fat and sodium in school lunch programs: The Lunchpower! Intervention Study. *J Am Diet Assoc* 1992; 92: 1087-1091.
- Soto T, Sáiz F, Rodríguez J y Chena C. Evaluation of Staphylococcal Food Contamination in Four Different Culture Media. *Rev Lat-Amer Microbiol* 1991; 33: 141-144.
- Tauxe R and Hughes J. Food-Borne Disease. En: Mandell G, Bennet J and Dolin R. *Infectious Diseases*. Fourth edition. New York, 1995.
- Tauxe R y Hughes J. Enfermedades transmitidas por los alimentos. En: Mandell, Douglas y Bennet. *Enfermedades infecciosas: principios y práctica*. 4ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1997; 81(I): 1128-42.
- Thompson SC. Infectious diarrhoea in children: Controlling transmission in the Child care setting. *J Paediatr Chil Health* 1994; 30: 210-219.
- Torre R, Jurado R, Pérez J, Hernández M, Morales E y Jurado M. Calidad microbiológica de platos elaborados en establecimientos de restauración. *Rev Esp Nutr Comunitaria* 1998; 4(3): 293-4.
- Valcárcel S. Implantación de sistemas HACCP. ¿Qué hacer en la práctica?. *Aliment* 1996; Mar: 23-6.
- Varela G. *Ingestas recomendadas para la población española*. Madrid: Departamento de nutrición. Universidad Complutense, 1994.
- Varó P, Guillem C y García A. Evaluación analítica de la composición nutricional básica de menús escolares. *Aliment* 1998; Ene-Feb: 29-33.
- Vázquez C. Aplicaciones terapéuticas de la dieta. En: Vázquez C, De Cos AI y López-Nomdedeu C. *Alimentación y nutrición*. Manual teórico-práctico. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1998; 21: 233-241.

Bibliografía

- Vázquez C, De Cos AI y López-Nomdedeu C. Alimentación y nutrición. Manual teórico-práctico. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1998.
- Vázquez C, De Cos AI y Martínez P y cols. Consumo de alimentos y nutrientes por edades y sexo en escolares de la Comunidad de Madrid (CAENPE). Rev Clin Esp 1996; 196: 501-508.
- Vidal MC, Izquierdo M y Veciana-Nogués MT. Estabilidad y métodos de conservación de los alimentos. En : Hernández M y Sastre A. Tratado de Nutrición. Madrid: Editorial Díaz de Santos, 1999; 30: 451-46.
- Vila-Ferrán J, Pérez M y Werner P. Análisis microbiológico de alimentos consumidos en colectividades. Aliment, 1986; May: 53-56.
- Vincent P-M. En: Dupin H, Cuq J-L, Malekiak M-I, Leynaud-Rouaud C y Berthier A-M. La alimentación humana. Barcelona. Ed. Bellaterra. 1997.
- Whitaker R, Wright J, Koepsell T, Finch A and Psaty B. Characteristics of Children Selecting Low-Fat Foods in an Elementary School Lunch Program. Arch Pediatr Adolesc Med, 1994; 148: 1085-91.
- Wieneke A, Roberts D y Gilbert R. Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969-90. Epidemiol Infect. 1993; 110: 519-531.
- Willet W. Diet and Health: What should we eat?. Science, 1994; 264: 532-537.
- Wolfe W y Campbell C. Food pattern, diet quality, and related characteristics of schoolchildren in New York State. J Am Diet Assoc, 1993; 93: 1280-1284.