

Control microbiológico de las comidas servidas en centros de educación infantil del Ministerio de Defensa durante el año 2017

Lozano Benito D.¹, Rípodas Navarro A.², Fernández-Moreira D.³, Bayarri Fernández S.⁴, Lázaro Gistau R.⁴, Zamora Benito A.⁵

Sanid. mil. 2019; 75 (1): 7-13, ISSN: 1887-8571

RESUMEN

Introducción: La población infantil es más vulnerable a las enfermedades de transmisión alimentaria que otros grupos demográficos. En los últimos años se han notificado brotes de enfermedades de origen alimentario en guarderías causados por agentes patógenos como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* o *Cronobacter sakazakii*. **Objetivos:** Determinar la calidad microbiológica de las comidas servidas en los comedores de las guarderías en relación con los criterios de seguridad alimentaria y de higiene de los procesos. **Materiales y Métodos:** Se analizaron 241 muestras del menú de iniciación y del menú completo en 13 guarderías. Se investigó la presencia de *Salmonella* spp. y *Cronobacter* spp. y se realizó el recuento de *L. monocytogenes* y de los microorganismos indicadores de la higiene de los procesos (aerobios mesófilos, enterobacterias totales, coliformes totales, *Escherichia coli* β -glucuronidasa positivos y *Staphylococcus aureus*). **Resultados:** *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* no se detectaron en ninguna de las muestras analizadas. *Cronobacter* spp. se aisló en la guarnición de ensalada de un segundo plato. *E. coli* no se detectó en ninguna muestra y para el resto de indicadores de higiene las prevalencias fueron las siguientes: aerobios mesófilos 36,10 %, enterobacterias 13,28 %, coliformes totales 7,47 % y *S. aureus* 4,14 %. El grupo de frutas fue siempre el que presentó mayor prevalencia en todos los parámetros, seguido por los segundos platos debido principalmente a la presencia de ensaladas en la guarnición. **Conclusiones:** Conforme a los resultados microbiológicos obtenidos, se considera que las comidas servidas tienen un alto grado de calidad microbiológica.

PALABRAS CLAVE: Calidad microbiológica, Guarderías, Seguridad alimentaria.

Microbiological Control of the Food Served in Children's Education Centres of the Ministry of Defense in 2017

SUMMARY: Introduction: Infants and children are more vulnerable to foodborne illnesses than other demographic population. In recent years, foodborne outbreaks have been reported in kindergartens because of the presence of pathogenic agents like *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Cronobacter sakazakii*. **Objective:** To determine the microbiological quality of foods ready for consumption in kindergarten foodservices regarding food safety and process hygiene criteria. **Materials and Methods:** 241 food samples from the initiation menu and full menu were analyzed in 13 kindergartens. *Salmonella* spp. and *Cronobacter* spp. were investigated and an enumeration of *L. monocytogenes* and of the hygiene indicator microorganisms (mesophilic aerobes, enterobacteriaceae, β -glucuronidase positive *Escherichia coli*, total coliforms and *Staphylococcus aureus*) was carried out. **Results:** No *Salmonella* spp. or *L. monocytogenes* were isolated from any of the samples. *Cronobacter* spp. was isolated in the fresh salad of a second plate. *E. coli* was not detected in any sample and the results shown in the rest of the hygiene indicators were the following: mesophilic aerobes 36,10 %, enterobacteriaceae 13,28 %, total coliforms 7,47 % and *S. aureus* 4,14 %. The fruits group was always the one that showed the highest prevalence in all the parameters, followed by the second courses mainly due to the presence of fresh salads. **Conclusions:** According to the microbiological results obtained, it is considered that the meals served have a high level of microbiological quality.

KEYWORDS: Microbiological quality, Kindergarten, Food safety.

¹ Cte. Veterinario. Academia Central de la Defensa. Escuela Militar de Sanidad. Madrid.

² Cap. Veterinario. Centro Militar de Veterinaria. Servicio de Bromatología e Higiene de los Alimentos. Madrid.

³ Civil. Doctor en Farmacia. Centro Militar de Veterinaria. Servicio de Bromatología e Higiene de los Alimentos. Madrid.

⁴ Civil. Doctora en Veterinaria. Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2-Zaragoza-CITA.

⁵ Tcol. Veterinario. Centro Militar de Veterinaria. Servicio de Bromatología e Higiene de los Alimentos. Madrid.

Dirección para correspondencia: Diego Lozano Benito. Centro Militar de Veterinaria de la Defensa (Servicio de Bromatología e Higiene de los Alimentos). Darío Gazapo 3. 28025, Madrid. Telf.: 917111306. dlozben@et.mde.es

Recibido: 11 de abril de 2018

Aceptado: 19 de junio de 2018

doi: 10.4321/S1887-85712019000100002

INTRODUCCIÓN

Según Buzby (2001)¹, la población infantil es más vulnerable a las enfermedades de transmisión alimentaria que otros grupos demográficos, debido al desarrollo parcial del sistema inmune y a un menor peso corporal que reduce la dosis infectiva necesaria para provocar la enfermedad. Así lo demuestra la notificación de diferentes brotes de origen alimentario en lactantes y niños de corta edad causados por bacterias patógenas como *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* o *C. sakazakii*^{2,3,4,5}.

La normativa europea establece los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Por un lado, fija criterios microbiológicos para la seguridad de los alimentos, y por otro,

criterios microbiológicos que definen la aceptabilidad del proceso⁶. El estudio realizado por Aguirre y Aguirre (2013)⁷ en centros infantiles asturianos, resaltaba la escasez de investigaciones para evaluar la calidad microbiológica de las comidas servidas en comedores escolares.

La Ley 17/2011 de seguridad alimentaria y nutrición, establece que serán los órganos sanitarios competentes del Ministerio de Defensa, los que apliquen sus disposiciones cuando éstas afecten a las unidades, centros y dependencias pertenecientes al Ministerio de Defensa⁸. Actualmente hay 25 centros de educación infantil (CEI) dependientes del Ministerio de Defensa, acogiendo a 1.222 niños de edades comprendidas entre los 6 meses y 3 años (primer ciclo de educación infantil).

Todo lo expuesto anteriormente, demuestra la conveniencia de realizar analíticas de control microbiológico de las comidas servidas a la población infantil. Por tanto, el objetivo principal de este estudio es determinar la calidad microbiológica de las comidas servidas en los comedores de los CEI adscritos al Ministerio de Defensa, teniendo en cuenta los criterios microbiológicos de seguridad alimentaria e higiene de los procesos establecidos por la legislación. Otros objetivos específicos son evaluar la influencia del tipo de alimento, del tratamiento térmico recibido y del modelo de gestión.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional transversal sobre los platos servidos en los CEI del Ministerio de Defensa. La totalidad de los CEI de los que se tomaron muestras estaban adjudicados a una única empresa que gestionaba de manera integral la alimentación, ya fuera elaborando las comidas en las propias cocinas de las guarderías (gestión directa) o mediante la contratación de un catering (gestión contratada).

El oficial veterinario asignado a cada CEI, cumpliendo el cronograma de una campaña de control oficial, realizó un muestreo no probabilístico consecutivo durante 5 días del menú de iniciación a base de purés y del menú completo formado por un primer plato, segundo plato y postre.

A su vez, estos platos podían haber sufrido un tratamiento térmico (grupo A) o ser comidas preparadas sin tratamiento térmico o que al menos alguno de sus ingredientes no hubiera sido tratado térmicamente (grupo B).

Se han analizado un total de 241 muestras, procedentes de 8 CEI que disponen de cocina propia y 5 CEI con catering (Tabla 1).

Tabla 1. Número de muestras analizadas según el tipo de gestión, plato y tratamiento.

	A		B		TOTAL
	GD	GC	GD	GC	
Primer plato	36	25	4	-	65
Segundo plato	35	18	3	7	63
Fruta	-	-	35	14	49
Purés	39	25	-	-	64
TOTAL	110	68	42	21	241

GD: Gestión directa. GC: gestión contratada. A: comidas preparadas con tratamiento térmico. B: comidas preparadas sin tratamiento térmico o con tratamiento térmico que lleva algún ingrediente no sometido a tratamiento térmico.

En la Tabla 2 se recogen los métodos analíticos utilizados para cada microorganismo analizado, para los cuales se utilizaron técnicas de microbiología tradicional y automatizada basadas en procedimientos acreditados por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC), a excepción de la investigación de *Cronobacter* spp.

Tabla 2. Métodos analíticos utilizados para cada parámetro.

Método analítico	Parámetro analizado
ISO 6579:2002 y VIDAS® SLM	Investigación <i>Salmonella</i> spp.
ISO 11290:2017 y VIDAS® LMO2	Detección y recuento <i>L. monocytogenes</i>
ISO 22964:2017 y PCR Tiempo Real	Investigación <i>Cronobacter</i> spp.
TEMPO® AC	Recuento Aerobios mesófilos
TEMPO® EB	Recuento Enterobacterias totales
TEMPO® TC	Recuento Coliformes totales
TEMPO® EC	Recuento <i>E. coli</i> β-glucuronidasa +
TEMPO® STA	Recuento <i>S. aureus</i>

Para la investigación de *Salmonella* spp. se empleó el sistema automatizado VIDAS®, que consiste en un inmunoensayo enzimático que detecta antígenos de *Salmonella* mediante la técnica ELFA (ensayo de fluorescencia ligado a enzima). Para el recuento de microorganismos indicadores de calidad higiénica se utilizó el sistema automatizado TEMPO®, que estima la cantidad de microorganismos basándose en la técnica del número más probable. A partir de la dilución inicial (1/10: 25 g representativos de la muestra en 225 ml de agua de peptona tamponada), se preparó una dilución 1/400 en el caso de TEMPO® AC y de 1/40 en el resto de microorganismos.

Para la investigación de *Cronobacter* spp. se siguió el método horizontal descrito en la ISO 22964:2017 con la modificación de la fase de confirmación en la que se utilizó la técnica de PCR a tiempo real. Las colonias sospechosas de *Cronobacter* spp. se confirmaron con el Thermo Scientific™ SureTect™ *Cronobacter* spp. PCR Assay, certificado por NF VALIDATION siguiendo el protocolo de validación de la norma ISO 16140.

Para el estudio estadístico descriptivo todos los recuentos microbiológicos se transformaron a logaritmos y se analizaron las medias, desviaciones estándar y rangos mediante Microsoft Excel (2013).

RESULTADOS

Las bacterias patógenas *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* no se detectaron en ninguna de las muestras analizadas. No obstante, *Cronobacter* spp. se aisló y confirmó en la guarnición (ensalada de lechuga y maíz) de un segundo plato de merluza en salsa.

Respecto a los microorganismos indicadores de la higiene de los procesos, la Tabla 3 muestra los recuentos y prevalencias de cada uno de ellos en las 241 muestras analizadas. Se consideraron positivas las muestras cuyos recuentos superaron los límites inferiores de cuantificación del sistema automatizado TEMPO® para cada tipo de ensayo (100 UFC/g para AM y 10 UFC/g para el resto de microorganismos).

En la Tabla 4 se reflejan las prevalencias obtenidas para los microorganismos aerobios mesófilos (AM), *E. coli* (EC) enterobacterias totales (EB), coliformes totales (CT) y *S. aureus* (STA), según el tipo de plato.

EC no se detectó en ninguna muestra, mientras que los AM mostraron la mayor prevalencia (36,10 %), destacando que más de la mitad de las frutas fueron positivas (53,06 %). Le siguieron en porcentaje los segundos platos y purés prácticamente con el mismo porcentaje (34,92 % y 34,37 %, respectivamente). Respecto a los primeros platos, aproximadamente la cuarta parte

(26,15 %) presentaron recuentos de AM superiores al límite de cuantificación.

El 13,28 % de las muestras analizadas resultaron positivas para EB, siendo de nuevo las frutas las que mostraron el mayor porcentaje (34,69 %). El recuento positivo fue bajo en los primeros platos y en los purés (6,15 % y 3,12 %, respectivamente) y algo mayor en los segundos platos (14,28 %).

La prevalencia de CT fue de un 7,47 %, volviendo a ser las frutas las que mostraron el porcentaje más alto (14,28 %). Un total de siete frutas resultaron positivas, el mismo número que para los segundos platos, lo que supuso un 11,11 % del total. En los primeros platos y en los purés el porcentaje de muestras positivas fue 3,08 % y 3,12 %, respectivamente.

Finalmente, STA solo se aisló en 10 muestras, concretamente en tres piezas de frutas, tres purés, dos primeros platos y dos segundos platos.

En la Tabla 5, se muestran los resultados correspondientes a los alimentos según el tratamiento térmico al que fueron sometido (grupo A y grupo B). La prevalencia de todos los microorganismos estudiados fue superior en los alimentos del grupo B: 58,73 % para AM, 42,86 % para EB, 23,81 % para CT y 6,34 % para STA.

Por último, en la Tabla 6 se comparan los modelos de gestión, 8 CEI con cocina central frente a 5 CEI con cocina catering. Se

Tabla 3. Recuentos (Log UFC/g) de microorganismos indicadores de la higiene del proceso.

	Muestras positivas (n)	Prevalencia (%)	Media (DE)	Mínimo- Máximo
AM	87	36,10	2,87 (0,89)	2,00-5,69
EB	32	13,28	2,38 (1,21)	1,00-4,69
EC	0	0	-	-
CT	18	7,47	2,42 (1,25)	1,00-4,69
STA	10	4,14	1,19 (0,16)	1,00-1,32

DE: desviación estándar.

AM: aerobios mesófilos. EB: enterobacteriáceas. EC: *E. coli*. CT: coliformes totales. STA: *S. aureus*.

Tabla 4. Recuentos (Log UFC/g) de microorganismos indicadores de la higiene de los procesos según el tipo de plato.

	Microorganismo	Muestras positivas (n)	Prevalencia (%)	Media (DE)	Mínimo-Máximo
Primer plato (n= 65)	AM	17	26,15	2,72 (0,78)	2,00-4,08
	EB	4	6,15	1,43 (0,34)	1,00-1,77
	EC	0	0	-	-
	CT	2	3,08	1,00 (0,00)	1,00-1,00
	STA	2	3,07	1,32 (0,00)	1,32
Segundo plato (n = 63)	AM	22	34,92	3,33 (1,19)	2,00-5,69
	EB	9	14,28	3,14 (1,49)	1,00-4,69
	EC	0	0	-	-
	CT	7	11,11	3,35 (1,25)	1,64-4,69
	STA	2	3,17	1,16 (0,23)	1,00-1,32
Fruta (n = 49)	AM	26	53,06	2,66 (0,88)	2,00-5,69
	EB	17	34,69	2,15 (0,98)	1,00-4,69
	EC	0	0	-	-
	CT	7	14,28	1,80 (0,65)	1,00-2,68
	STA	3	6,12	1,11 (0,18)	1,00-1,32
Purés (n = 64)	AM	22	34,37	2,80 (0,72)	2,00-4,26
	EB	2	3,12	2,79 (1,34)	1,85-3,74
	EC	0	0	-	-
	CT	2	3,12	2,78 (1,17)	1,95-3,61
	STA	3	4,68	1,21 (0,18)	1,00-1,32

DE: desviación estándar.

AM: aerobios mesófilos. EB: enterobacteriáceas. EC: *E. coli*. CT: coliformes totales. STA: *S. aureus*.

Tabla 5. Recuentos (Log UFC/g) de microorganismos indicadores de la higiene de los procesos según el tratamiento térmico.

	Microorganismo	Muestras positivas (n)	Prevalencia (%)	Media (DE)	Mínimo-Máximo
A (n = 178)	AM	50	28,08	2,75 (0,74)	2,00-4,72
	EB	5	2,81	2,36 (1,53)	1,00-4,23
	EC	0	0	-	-
	CT	3	1,68	3,11 (1,01)	1,95-3,78
	STA	6	3,37	1,27 (0,13)	1,00-1,32
B (n = 63)	AM	37	58,73	3,04 (1,15)	2,00-5,69
	EB	27	42,86	2,38 (1,18)	1,00-4,69
	EC	0	0	-	-
	CT	15	23,81	2,29 (1,27)	1,00-4,69
	STA	4	6,34	1,08 (0,16)	1,00-1,32

DE: desviación estándar.

AM: aerobios mesófilos. EB: enterobacteriáceas. EC: *E. coli*. CT: coliformes totales. STA: *S. aureus*. A: comidas preparadas con tratamiento térmico. B: comidas preparadas sin tratamiento térmico o con tratamiento térmico que lleva algún ingrediente no sometido a tratamiento térmico.**Tabla 6.** Recuentos (Log UFC/g) de microorganismos indicadores de la higiene de los procesos según el modelo de gestión.

	Microorganismo	Muestras positivas (n)	Prevalencia (%)	Media (DE)	Mínimo-Máximo
Gestión directa (n = 152)	AM	59	38,81	2,85 (0,78)	2,00-4,72
	EB	24	15,79	2,21 (1,01)	1,00-4,69
	EC	0	0	-	-
	CT	13	8,55	1,97 (0,94)	1,00-3,78
	STA	6	3,94	1,16 (0,17)	1,00-1,32
Gestión contratada (n = 89)	AM	28	31,46	2,84 (1,12)	2,00-5,69
	EB	8	8,79	2,90 (1,64)	1,00-4,69
	EC	0	0	-	-
	CT	5	5,62	3,61 (1,22)	2,20-4,69
	STA	4	4,49	1,24 (0,16)	1,00-1,32

DE: desviación estándar.

AM: aerobios mesófilos. EB: enterobacteriáceas. EC: *E. coli*. CT: coliformes totales. STA: *S. aureus*. GD: gestión directa. GC: gestión contratada.

observan porcentajes ligeramente superiores de AM, EB y CT en las cocinas de gestión directa (38,81 %, 15,79 % y 8,55 %, respectivamente), con respecto a las de gestión contratada (31,46 %, 8,79 % y 5,62, respectivamente). Sin embargo, para STA se obtiene una prevalencia mayor en las cocinas con catering (4,49 %), que en las cocinas de gestión directa (3,94 %).

DISCUSIÓN

La ausencia de *L. monocytogenes* y de *Salmonella* spp. indica el cumplimiento de los criterios microbiológicos de seguridad alimentaria exigidos por la normativa europea⁶, revelando un adecuado nivel de seguridad microbiológica en las muestras analizadas. En otros estudios realizados sobre la calidad microbiológica de las comidas servidas en comedores escolares tampoco se detectaron estos patógenos^{9,10}. Sin embargo, en un estudio llevado a cabo en guarderías y colegios de Italia, se aisló *Salmonella* spp. en un 5 % de las muestras de verduras frescas y *L. monocytogenes* en una ensalada de tomate. Los autores señalaron como posible causa la ineficacia del procedimiento de limpieza y desinfección de verduras¹¹.

El método analítico empleado para la investigación de *Cronobacter* spp. se considera idóneo y nos permitió aislar y confirmar su presencia en una única muestra, concretamente en una guarnición de lechuga y maíz.

La persistencia de *Cronobacter* spp. en ambientes de producción alimentaria¹² y la notificación de infecciones en ancianos y

adultos inmunocomprometidos¹³, ha reactivado la investigación de esta bacteria por todo el mundo en otros productos diferentes a las fórmulas infantiles, centrándose en alimentos listos para el consumo y de venta al público^{14,15,16,17,18}.

En el estudio llevado a cabo por Vojkowska et al. (2016)¹⁷ en la República Checa, se obtuvieron 38 muestras positivas en muestras de verduras y vegetales (9,6 %). En nuestro trabajo, de las 63 muestras de los segundos platos, solo 11 aportaron la guarnición de ensalada, lo que supondría un 9,10 % de prevalencia de *Cronobacter* spp. en las ensaladas. Además, 3 de las 11 ensaladas incluían maíz entre sus ingredientes. Brandao et al. (2017)¹⁸ aislaron *Cronobacter* spp. en el 66,7 % de las harinas analizadas. Entre las harinas estudiadas había 11 harinas de maíz de las cuales 9 resultaron contaminadas, demostrando que esta planta puede ser reservorio de *Cronobacter* spp.

Respecto a los microorganismos indicadores de calidad higiénica, la legislación vigente no establece unos límites de aceptabilidad para las comidas preparadas. Por ello, se ha decidido comparar los resultados con los límites de aceptabilidad microbiológica fijados por un estudio colaborativo en Italia¹⁹.

Solo cuatro de las muestras positivas a AM, no resultaron aceptables. Por un lado, dos segundos platos, merluza con ensalada, que rebasó el límite superior de cuantificación del sistema TEMPO® (5,69 log UFC/g) y tortilla con ensalada, con un recuento de 5,57 log UFC/g. En ambos casos la guarnición de ensalada se componía de lechuga y maíz. Por otro lado, un puré de ternera (4,26 log UFC/g) y un primer plato de arroz con tomate

(4,08). Según Aycicek et al. (2004)²⁰, recuentos por encima de 5 log UFC/g podrían significar un riesgo potencial por la posible presencia de microorganismos patógenos.

A las frutas frescas no se les aplica los criterios microbiológicos para AM porque a menudo contienen niveles altos de estos microorganismos como parte de su flora normal. Por ello, es normal que la mayor distribución de AM se encontrara en las frutas (53,06 %), con una media de 2,66 log UFC/g y una pieza de ellas superando el umbral superior de cuantificación (5,69 log UFC/g).

Con relación a las EB, ninguna de las muestras analizadas de los primeros platos superó el criterio microbiológico establecido por Tonucci et al. (2005)¹⁹. Sí lo hicieron 6 de las 9 muestras positivas de los segundos platos, debido principalmente a que 5 de ellas presentaban como guarnición ensalada. Solo dos platos con tratamiento térmico, un segundo plato y un puré de ternera, mostraron resultados no aceptables. Las frutas vuelven a ser el grupo con mayor número de muestras positivas (34,69 %), con una media de 2,15 log UFC/g y una muestra superando el límite superior de cuantificación del sistema TEMPO® (4,69 log UFC/g).

Respecto a los CT, de las 6 muestras que superaron el límite para EB, de nuevo 3 de ellas con ensalada de guarnición superaron el valor de aceptabilidad para CT, incluso dos con resultados sobrepasando el umbral superior de cuantificación del equipo TEMPO® (4,69 log UFC/g). Más llamativo es que los dos platos con tratamiento térmico que superaron el límite para EB (un pastel de merluza y el puré de ternera), presentaron también recuentos no aceptables de CT (3,78 y 3,61 log UFC/g, respectivamente). Este hallazgo ocurrió en el mismo CEI, lo que denota unas malas prácticas de manipulación como pueden ser una preparación con demasiada antelación y mantenimiento posterior a una temperatura incorrecta. También puede indicar una contaminación cruzada con útiles de elaboración o recipientes de conservación mal higienizados. La prevalencia de este grupo de microorganismos en las frutas no fue tan alta (14,28 %) y con recuentos siempre por debajo de 3 log UFC/g.

Es de destacar que ninguna muestra fue positiva a EC. En este caso el Reglamento (CE) N° 2073/2005 sí establece criterios de higiene de los procesos para frutas y hortalizas troceadas listas para el consumo (3 log UFC/g)⁶.

En nuestro estudio, STA fue el parámetro menos detectado, con solo 10 muestras positivas (4,14 %) y presentó unos recuentos bajos, entre 1 y 1,32 log UFC/g. De las 10 muestras 6 correspondieron a platos con tratamiento térmico (tres primeros platos y tres purés), otras tres a frutas troceadas y la última a un segundo plato con ensalada. Si prestamos atención a la guía de la Agencia de Protección de la Salud del Reino Unido²¹, clasifica el riesgo asociado a la concentración de STA en tres niveles: bajo < 20 UFC/g, moderado 20-10⁴ UFC/g y alto >10⁴ UFC/g. Por tanto, en nuestro estudio, los recuentos obtenidos no suponen un riesgo alimentario.

Como muestran los resultados discutidos anteriormente, el grupo de alimentos con mayor número de muestras positivas fue el de las frutas y el que más resultados no aceptables obtuvo, respecto a los límites microbiológicos establecidos por Tonucci et al. (2005)¹⁹, fue el de los segundos platos con

guarnición de ensalada. Del 6,64 % de las muestras que superaron los límites de referencia de aceptabilidad, el 55,55 % correspondieron a la guarnición de ensaladas de los segundos platos.

En el estudio realizado por Rodríguez-Caturla et al. (2012)²² en ensaladas consumidas en comedores escolares de España, se obtuvieron recuentos de AM por debajo de 6 log UFC/g, de CT por debajo de 4 log UFC/g, de STA por debajo de 2 log UFC/g y un 5 % de muestras positivas para EC. No se detectaron ni *Salmonella* spp. ni *Listeria* spp.

Abadías et al. (2008)²³ indicaron que la alta carga de AM puede provenir de fuentes ambientales durante las diferentes fases de manipulación, cortado y almacenamiento incorrectos.

Los CT pueden proceder de malas prácticas durante la recolección, el almacenamiento y la distribución²⁴. Según Nguz et al. (2005)²⁵, las hortalizas frescas tratadas con cloro todavía albergaban niveles altos de CT (5,9 log UFC/g).

La presencia de EC en los alimentos indica unas prácticas y condiciones higiénicas deficitarias²⁶. Doyle y Erickson (2006)²⁷ concluyeron que EC es un mejor indicador de contaminación fecal que los CT, puesto que dentro de este grupo puede haber especies de origen no fecal.

La aparición de *Staphylococcus aureus* se puede deber a que los manipuladores sean portadores y por malas prácticas de higiene que contaminen los vegetales y las superficies de contacto a través de sus manos o secreciones²⁸.

Respecto a la presencia de patógenos en productos vegetales, como ya se ha indicado anteriormente, solo se detectó *Cronobacter* spp. en una ensalada de lechuga y maíz. Tanto el estudio de Brandao et al. (2017)¹⁸, como el previo de Schmid et al. (2009)²⁹ en el que observaron la colonización de *Cronobacter* spp. en las raíces de maíz y tomate, evidenciaron que las plantas pueden ser hospedador natural de *Cronobacter* spp. Por ello, estos productos que no son sometidos a tratamiento térmico pueden representar un peligro para los niños y otras poblaciones vulnerables.

Hay numerosos estudios sobre la calidad microbiológica en frutas frescas mínimamente procesadas. Graça et al. (2017)³⁰ describieron resultados en diferentes frutas de supermercados de Portugal, con rangos de AM entre 3 log UFC/g y 9,2 log UFC/g. Abadías et al. (2008)²³ publicaron intervalos inferiores de AM (2 log UFC/g y 7,1 log UFC/g) y de 1,7 log UFC/g y 4,8 log UFC/g para EB en frutas comercializadas en España. En el estudio portugués los valores de CT se situaron entre 1 log UFC/g y 9,1 log UFC/g.

Otro estudio de la autora Graça et al. (2015)³¹, valoró la calidad microbiológica en manzanas cortadas frescas. Los valores obtenidos fueron los siguientes: AM entre 3,3 log UFC/g y 8,9 log UFC/g, CT entre 1,8 log UFC/g y 7,6 log UFC/g y un 5 % de las muestras analizadas presentaron cargas de STA entre 1 log UFC/g y 3 log UFC/g.

No se detectó EC, ni *Salmonella* spp., ni *L. monocytogenes* en ninguno de los tres estudios anteriores^{23,30,31}. Graça et al. (2015)³¹ también investigó en manzanas el patógeno emergente *C. sakazakii* sin que fuera hallado en ninguna de las muestras.

En nuestra investigación, no se ha detectado ningún patógeno en frutas, hecho de gran relevancia puesto que hay numerosos estudios que muestran como diferentes bacterias patógenas

(*Salmonella* spp., *L. monocytogenes* y EC productoras de toxina Shiga) pueden sobrevivir y crecer en frutas frescas^{32,33}.

En el sistema de autocontrol implantado por la empresa adjudicataria se contempla la higienización de frutas y hortalizas de consumo en crudo: “los productos frescos se introducirán en una solución de lejía de uso alimentaria el tiempo y dosificación indicados por el fabricante y se aclararán con abundante agua corriente”. Beuchat (1998)³⁴ recomendó concentraciones entre 50 y 200 ppm durante 1-2 minutos. Sería aconsejable supervisar si se realizan eficazmente estos procedimientos.

Si analizamos la presencia de los indicadores de higiene en las muestras según el tratamiento recibido, las del grupo B, ofrecieron unos porcentajes de muestras positivas mucho más altos (AM 58,73 %, EB 42,86 %, CT 42,86 y STA 6,34) que las del grupo A (AM 28,08 %, EB 2,81 %, CT 1,68 % y STA 1,68 %). Este dato se explica, como ya se ha mencionado con anterioridad, por la inclusión dentro del grupo B de las frutas y aquellos primeros o segundos platos que incorporaban como ingredientes productos vegetales frescos. Sin embargo, en los platos tratados térmicamente, especialmente en los menús de iniciación, más de la tercera parte de los purés presentaron recuentos de AM con una media de 2,80 log UFC/g. Estos valores podrían indicar un tratamiento térmico insuficiente, una conservación inadecuada, una contaminación cruzada posterior a la elaboración, etc.

Respecto al modelo de gestión, a falta de un tratamiento estadístico analítico, parece que no hay influencia de esta variable en los resultados. La prevalencia de AM, EB y CT ha sido mayor en los CEI con cocina propia, al contrario que para STA, que ha presentado mayor prevalencia en las cocinas con gestión contratada (catering).

La contaminación por STA, como ya se ha indicado, tiene origen humano. *Staphylococcus aureus* sobrevive bien en la piel por lo que se puede vehicular a través de las manos si no hay una correcta higienización de las mismas y también se transmite a los alimentos en forma de aerosoles al estornudar, toser o hablar²⁸. Por ello, si los manipuladores de alimentos simultanean tareas de cuidado de los bebés con la manipulación de alimentos, el comportamiento infantil puede favorecer la diseminación de los microorganismos del tracto respiratorio. Esta situación podría darse en los CEI con servicio de catering, puesto que el personal de estas guarderías podría estar menos especializado al no tener que elaborar los alimentos y solo tener que regenerar, mantener y servir los platos cocinados, así como pelar y trocear las frutas.

En el estudio microbiológico de Campos Díaz et al. (2003)¹⁰ en comidas preparadas de comedores escolares en Tenerife, no se encontraron diferencias significativas según el tipo de gestión. Sí que observaron, que en ambos tipos de cocina las ensaladas y los complementos fueron el tipo de platos con un mayor porcentaje de muestras no aptas.

CONCLUSIONES

Se considera que las comidas servidas en los CEI del Ministerio de Defensa tienen un alto grado de calidad microbiológica. No obstante, se recomienda revisar los procedimientos de higienización de las ensaladas y frutas así como las prácticas de manipulación durante la elaboración de los purés de los menús de iniciación.

Por último, se propone realizar más controles microbiológicos, incluida la investigación de *Cronobacter* spp., en los productos vegetales frescos servidos en otras instalaciones alimentarias militares.

AGRADECIMIENTOS

A los compañeros inspectores veterinarios encargados de enviar las muestras para su análisis y al personal de la empresa del servicio de alimentación por su colaboración, sin la que cual no hubiera sido posible la realización de este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Buzby JC. Children and microbial foodborne illness. *Food Review* 2001; 24 (2): 32-7.
2. Caubilla-Barron J, Hurrell E, Townsend S, Cheetham P, Loc-Carrillo C, Fayet, O et al. Genotypic and Phenotypic Analysis of *Enterobacter sakazakii* Strains from an Outbreak Resulting in Fatalities in a Neonatal Intensive Care Unit in France. *Journal of clinical microbiology JCM* 2007; 45 (12): 3979-3985.
3. EFSA (European Food Safety Authority) y ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal* [en línea] 2016; 14 (12) [Consulta: 22 diciembre 2017]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4634/abstract>.
4. Andreu Román MM, Allué Tango M, Berbel Hernández C, Andrés García I. Salmonella serovar Poona outbreak in a nursery. *Pediatría Atención Primaria* 2016; 18 (69): 35-43.
5. Jourda-da Silva N, Fabre L, Robinson E, Nisavanh A, Bruyand M, Mailles A et al. Ongoing nationwide outbreak of *Salmonella* Agona associated with internationally distributed infant milk products, France, December 2017. *Euro Surveill.* 2018; 23(2).
6. Reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea* L338 de 22 de diciembre de 2005 y sus modificaciones Reglamento (CE) N° 1441/2007 de la Comisión de 05 de diciembre de 2007, DOUE L332 07/12, que modifica el Reglamento (CE) N° 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios y el Reglamento (UE) N° 365/2010 de la Comisión de 28 de marzo de 2010, DOUE L107 29/04, que modifica el Reglamento (CE) N° 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios).
7. Aguirre Bastarrica E, Aguirre Bastarrica S. Estudio y programa de mejora de la seguridad alimentaria en centros infantiles asturianos. *Revista de toxicología* 2013; 30: 165-170.
8. Ley 17/2011, de 5 de julio, de seguridad alimentaria y nutrición. *BOE*, 6 de julio de 2011, núm. 160: 71283-71319.
9. Pérez-Silva M, Belmonte S, Martínez J. Estudio microbiológico de los alimentos elaborados en comedores colectivos de alto riesgo. *Revista Española de Salud Pública* 1998; 72 (1): pp: 67-75.
10. Campos J, Rodríguez C, Sierra A, Arias Á. Estudio microbiológico de las comidas servidas en los comedores escolares de la isla de Tenerife. *Revista Española de Salud Pública* 2003; 77 (6): 749-760.
11. Marzano MA, Balzaretta CM. Protecting child health by preventing school-related foodborne illnesses: Microbiological risk assessment of hygiene practices, drinking water and ready-to-eat foods in Italian kindergartens and schools. *Food control* 2013; 34 (2): 560-567.
12. Mullane NR, Whyte P, Wall PG, Quinn T, Fanning S. Application of pulsed-field gel electrophoresis to characterise and trace the prevalence of *Enterobacter sakazakii* in an infant formula processing facility. *International Journal of Food Microbiology* 2007; 116 (1): 73-81.
13. Ray P, Das A, Gautman V, Jain N, Wig JD, Sharma M. Postoperative No-

- socomial Enterobacter Sakazakii Sepsis. *ANZ Journal of Surgery* 2007; 77 (10): 915-916.
14. Mohammed MA, Sallam KI, Tamura T. Prevalence, identification and molecular characterization of Cronobacter sakazakii isolated from retail meat products. *Food Control* 2015 (53): 206-211.
 15. Xu X, Li C, Wu Q, Zhang J, Huang J, Yang G. Prevalence, molecular characterization, and antibiotic susceptibility of Cronobacter spp. in Chinese ready-to-eat foods. *International Journal of Food Microbiology* 2015; 204: 17-23.
 16. Akineden O, Murata KJ, Grossleine M, Usleber E. Microbiological Quality of Raw Dried Pasta from the German Market, with Special Emphasis on Cronobacter Species. *Journal of Food Science* 2015; 80: 2860-2867.
 17. Vojtkovska H, Karpiskova R, Orieskova M, Drahovska H. Characterization of Cronobacter spp. isolated from food of plant origin and environmental samples collected from farms and from supermarkets in the Czech Republic. *International Journal of Food Microbiology* 2016; 217: 130-136.
 18. Brandao MLL, Umeda NS, Jackson E, Forsythe SJ, De Filippis I. Isolation, molecular and phenotypic characterization, and antibiotic susceptibility of Cronobacter spp. from Brazilian retail foods. *Food Microbiology* 2017; 63: 129-138.
 19. Tonucci F, Cenci T, Casiere A, Petruzzelli A, Migliazzo A, Montagna C et al. Progetto di collaborazione tra gli Istituti Zooprofilattici: limiti di riferimento per la ristorazione collettiva (Collaborative project between the Istituti Zooprofilattici: reference limits for catering). *Atti XV Convegno nazionale AIVI* 2005; 351-356.
 20. Aycicek H, Sarimehmetoglu B, Cakirglu S. Assessment of the microbiological quality of meals sampled at the meal serving units of a military hospital in Ankara, Turkey. *Food control* 2004; 15 (5): 379-384.
 21. Health Protection Agency of United Kingdom (HPA). *Guidelines for assessing the microbiological safety of Ready-to-Eat foods placed on the market*. [en línea]. 2009. S.l.: s.n. Disponible en: http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20140714084352/http://hpa.org.uk/webc/hpawebfile/hpaweb_c/1259151921557.
 22. Rodríguez-Caturla MY, Valero A, Carrasco E, Posada GD, García-Gimeno RM y Zurera G. Evaluation of hygiene practices and microbiological status of ready-to-eat vegetable salads in Spanish school canteens. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2012; 92 (11): 2332-2340.
 23. Abadías M, Usall J, Anguera M, Solsona C, Viñas I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology* 2008; 123 (1-2): 121-129.
 24. Faour-Klingbeil D, Murtada M, Kuri V, Todd ECD. Understanding the routes of contamination of ready-to-eat vegetables in the Middle East. *Food Control* 2016; 62: 125-133.
 25. Nguz K, Shindano J, Samapundo S, Huyghebaert A. Microbiological evaluation of fresh-cut organic vegetables produced in Zambia. *Food Control* 2005; 16 (7): 623-628.
 26. Gilbert RJ, De Louvois J, Donovan T, Little C, Nye K, Ribeiro CD et al. Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. PHLS Advisory Committee for Food and Dairy Products. *Communicable Disease and Public Health* 2000; 3 (3): 163-167.
 27. Doyle MP, Erickson MC. Closing the Door on the Fecal Coliform Assay. *Microbe Magazine* 2006; 1 (4): 162-163.
 28. Todd ECD, Greig JD, Bartleson CA, Michaels BS. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 6. Transmission and survival of pathogens in the food processing and preparation environment. *Journal of Food Protection* 2009; 72 (1): 202-219.
 29. Schmid M, Iversen C, Gontia I, Stephan R, Hofmann A, Hartmann A et al. Evidence for a plant-associated natural habitat for Cronobacter spp. *Research in Microbiology* 2009; 160 (8): 608-614.
 30. Graça A, Esteves E, Nunes C, Abadías M, Quintas C. Microbiological quality and safety of minimally processed fruits in the marketplace of southern Portugal. *Food Control* 2017; 73 (B): 775-783.
 31. Graça A, Santo D, Esteves E, Nunes C, Abadías M, Quintas C., Evaluation of microbial quality and yeast diversity in fresh-cut apple. *Food Microbiology* 2015; 51: 179-185.
 32. Berger CN, Sodha SV, Shaw RK, Griffin PM, Pink D, Hand P et al. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology* 2010; 12 (9): 2385-2397.
 33. Alegre I, Abadías M, Anguera M, Usall J, Viñas I. Fate of Escherichia coli O157:H7, Salmonella and Listeria innocua on minimally-processed peaches under different storage conditions. *Food Microbiology* 2010; 27 (7): 862-868.
 34. Beuchat LR. Surface Decontamination of Fruits and Vegetables Eaten Raw. A Review, Food Safety Issues, Food Safety Unit. World Health Organization, Geneva [en línea] 1998. [Consulta: 15 junio 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/foodsafety/publications/food-decontamination/en/>