

MEJORA HIGIÉNICA EN LA LÍNEA DE ELABORACIÓN DE ENSALADAS EN COMEDORES COLECTIVOS

Hygienic improvement in production line in school kitchens

A.M. Vera y M. Martínez Tomé

Área Nutrición y Bromatología, Campus de Espinardo, Universidad de Murcia, Apdo. 4021, Espinardo 30080, Murcia

RESUMEN

Se estudió *in situ* las distintas etapas de la línea de producción de ensalada desde entrada de materias primas hasta la zona de las mesas frías en el momento del autoservicio por parte del usuario para conseguir una disminución en el número de microorganismos presentes en los alimentos elaborados en frío, muestreando la línea en las cocinas de tres centros (A, B, C).

Gran número de enterobacterias y de microorganismos aerobios mesófilos se aislaron de los ingredientes de la ensalada antes de su lavado e higienización. Se observó que después del lavado con hipoclorito sódico el nivel de microorganismos disminuyó. También las tablas de corte, cuchillas, cuchillos y otros utensilios se limpiaron para evitar la supervivencia y crecimiento de los microorganismos.

Se hizo mucho hincapié en la formación del personal manipulador, mostrándoles incluso los resultados de las placas de cultivo sembradas durante la elaboración de los alimentos incide muy positivamente en la elaboración higiénica de los alimentos. Los productos alimenticios elaborados bajo esta metodología de trabajo, presentan un gran margen de seguridad, distando mucho de los límites fijados por la norma microbiológica correspondiente.

SUMMARY

Salad samples are studied in the production line included the arrives raw ingredients, those which had been washed and cut, and the final product during the storage and display in three school kitchens (A, B, C).

Large numbers of enterobacteria and aerobic mesophilic colonies were isolated from the ingredients salad before sanitising and washing. It has been observed after cutting and using active chlorine for washing, the microorganism levels were lower. Also cutting boards, tables, slicers, knives and other utensils were cleaned to avoid the survival and /or growth of microorganisms.

The illustration of microbiological infection by showing the culture plates to the staff receiving training proved to be a useful tool in improving good manufacturing practices.

INTRODUCCIÓN

Muchos consumidores creen que cuanto menos procesado recibe un alimento, éste es más saludable. Esta creencia ha influido en la elaboración de alimentos en los últimos años; así la reducción de las combinaciones de tiempo y temperatura (menor cocinado), menos cantidad de sal, menos secado, tiempos de fermentación y maduración más cortos, menos acidificación, enfriado más que congelado, son realidad en la mayoría de las industrias. Claramente, estos cambios pueden presentar nuevos riesgos, porque los márgenes de seguridad están siendo menores. Al mismo tiempo, el consumidor no siempre respeta las principales normas de higiene alimentaria, tales como la separación de alimentos crudos y cocinados o seguir cuidadosamente las instrucciones para la elaboración (VAN SCHOTHORST, 1991).

Según el comité experto OMS/FAO sobre la seguridad alimentaria asegura que la enfermedad debida al alimento contaminado es probablemente el más amplio problema de salud en el mundo contemporáneo y una importante causa de baja productividad económica, tanto en países desarrollados, como en los que están en desarrollo (EHIRI et al., 1995).

Las investigaciones sobre el aumento de enfermedades alimentarias asociadas a alimentos preparados en los establecimientos muestran que ciertas prácticas u operaciones, frecuentemente contribuyen a causarlas (BRYAN, 1988).

Los diez factores más importantes que tienen relación con ello son en primer lugar con un 56% el enfriamiento inadecuado, de-

jando alimentos cocinados a temperatura ambiente y/o almacenamiento de alimentos en grandes contenedores en las cámaras frigoríficas; en segundo lugar el intervalo de 12 horas o más entre la preparación y la ingestión lo que supone un 31%; seguido de manipuladores de alimentos infectados, 24%; recalentamiento inadecuado, 20%; mantenimiento en caliente impropio, 16%; ingredientes/materias primas contaminadas, 9%; alimentos de fuentes no higiénicas, 6%; limpieza inadecuada del equipo y utensilios, 6%; contaminación cruzada de alimentos crudos y cocinados, 5% y cocinado inadecuado, 4% (los porcentajes exceden de 100% porque en muchos de los brotes contribuyen factores múltiples) (BRYAN, 1990).

WEINGOLD et al. (1994), resumen en tres problemas que son un recalentamiento insuficiente, refrigeración inadecuada y la preparación de los alimentos durante varias horas antes del servicio. Esto origina que en cualquier situación donde una gran cantidad de alimento tiene que prepararse con antelación y bajo condiciones poco ideales, puedan ocurrir problemas.

La incidencia de los microorganismos en los análisis del producto final refleja la calidad sanitaria de los alimentos. De ahí, la gran importancia que tiene disponer por un lado de materia prima con baja contaminación, indicativo de la calidad de las mismas; y por otro lado que su manipulación sea higiénica por parte de los trabajadores que están en la línea de fabricación o elaboración. Si esta microbiología se aplica en las diferentes etapas del proceso empezando incluso por la entrada de materias primas, su aplicación no sólo residirá en el control de calidad, si no que se hará ex-

tensivo a prevención epidemiológica (KOLOZYN-KRAJEWSKA, 1995; BUCHANAN y WHITING, 1996; SIMPSON, 1996).

Para ello es necesario combinar con la microbiología, las matemáticas y la estadística. De esta manera se desarrollarán modelos que describen y pueden predecir, el crecimiento o la disminución de microorganismos bajo condiciones medioambientales específicas (WHITING, 1995).

La experiencia acumulada en los últimos 30-40 años, en los que el análisis microbiológico de los alimentos ha ido generalizándose, ha demostrado la poca utilidad del análisis a los productos finales en las fábricas (MORENO, 1989; WEHR, 1991; NOTERMANS et al., 1994) o en los lugares de venta si no se habilitan las medidas preventivas más convenientes para eliminar las alteraciones de los alimentos y enfermedades en el consumidor, las cuales suelen originarse por errores en la manipulación y en el procesado (VAN SCHOTHORST, 1990).

La detección de estos errores y su rápida corrección son el objetivo principal de todo sistema de control microbiológico. Por eso en los últimos tiempos, la inspección de las industrias y de los propios alimentos por parte de la Administración debe ejercerse también con fines preventivos (MORENO, 1989).

Además, el análisis microbiológico consume tiempo y en la mayoría de los casos, el alimento en cuestión se habrá consumido antes de que los resultados se conozcan. La detección de *Listeria*, por ejemplo, puede llevar varias horas y a veces, períodos más largos que la vida de muchos alimentos perecederos. Además, el análisis del producto final es generalmente tarea de los microbiólogos que no están directamente implicados en las actividades de preparación diaria y pueden, por tanto, estar

poco familiarizados con la variabilidad y las limitaciones del proceso (EHIRI y MORRIS, 1994).

El objetivo de este trabajo fue mejorar en control en la línea de elaboración de alimentos en cocinas con particular atención en las ensaladas, utilizando para ello los controles básicos y formando a los manipuladores en las buenas prácticas de manipulación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Recogida de muestras

En el mes de abril nos desplazamos a los tres centros con el material necesario, para estudiar *in situ* las distintas etapas de la línea de elaboración de ensalada desde entrada de materias primas hasta la zona de las mesas frías en el momento del autoservicio por parte del usuario.

Esta elección se realizó sobre la base de los resultados de los análisis microbiológicos, desarrollados durante los tres primeros meses del estudio en los centros, y comparando dichos resultados con los valores establecidos por la legislación española en materia de restauración colectiva (R.D.2817/83); consideramos que aunque los resultados obtenidos estaban dentro de los límites establecidos, existía la posibilidad de conseguir una disminución en el número de microorganismos presentes en los alimentos elaborados en frío, muestreando la línea.

Observamos que los ingredientes comunes en los centros de estudio para la elaboración de las ensaladas eran fundamentalmente lechuga *iceberg* y tomate; el resto de ingredientes eran variables, oscilando entre lombarda, aceitunas y pepino.

Una vez situados a pie de línea, tomamos muestras de los ingredientes antes y después de las manipulaciones que sufren, así como de las superficies de trabajo, recipientes, cuchillos y demás útiles empleados en la elaboración de las ensaladas. Los utensilios se desinfectaban con hipoclorito y se muestrearon antes y después de su limpieza; incluso si se utilizaban para manipular otros ingredientes, se volvían a muestrear.

Las muestras para su traslado al laboratorio las introducíamos en la nevera portátil con placas de hielo en su interior y con un termómetro adecuado para controlar la temperatura máxima y mínima. La nevera además tiene un sistema de refrigeración incorporado y conectable al enchufe del coche.

Metodología de la microbiología

Para el enriquecimiento previo no selectivo de bacterias especialmente de Enterobacteriáceas patógenas a partir de alimentos y otros materiales se utilizó Agua de peptona (tamponada) Merck®. Se resuspenden 25,0 g de muestra de alimento en Agua de peptona (225 ml) y se homogeneiza en un Stomacher (IUL Masticator No.0927/94 tipo 0400) (HARRISON et al. 1996) y a partir de ella se realizan las diluciones seriadas.

Para el recuento de aerobios mesófilos se utilizó el medio Agar-peptona de caseína-glucosa-extracto de levadura de Merck®. El inóculo (1.0 ml) se disemina por la superficie del agar con la ayuda de un asa de vidrio estéril (PROKOPOWICH y BLANK, 1991). Las placas ya sembradas se incuban a 37°C de temperatura durante 24 horas.

En el aislamiento y la diferenciación de *Staphylococcus aureus* en alimentos se utilizó el Agar Baird Parker (Merck)

(PROKOPOWICH y BLANK, 1991) y se incubaron a 37°C durante 24-48 horas. Típicas colonias negras (gram-positivas, cocos catalasa-positivas) se sometieron al test de la coagulasa (Difco Laboratorios, Detroit MI, USA).

Los microorganismos psicrotróficos se determinaron en las muestras haciendo una siembra en superficie de diluciones seriadas sobre el Agar-peptona de caseína-glucosa-extracto de levadura (Merck), las cuales fueron entonces incubadas a 5°C durante 7-10 días. No se utilizó medio selectivo para dichas poblaciones (Sheridan, 1995). Para aislar *Streptococcus tipo D de Lancefield* las muestras se sembraron sobre placas con Agar-Canamicina-Esculina-Azida (Merck) y se incubaron a 37°C durante 24 horas.

Las poblaciones anaerobias se determinaron en tubo con el Agar-sulfito-Polimixina-Sulfadiacina (SPS) de Merck®, que según ANGELOTTI et al. (1962) es para el aislamiento y enumeración de *Clostridium perfringens* y el Agar-triptona-sulfito-Neomicina (TSN) que se utiliza según las especificaciones de MOSSEL (1959) y MARSHALL et al. (1965). Se incubaron en jarras anaerobias a 46°C durante 24 horas. Las condiciones anaerobias se producen en dichas jarras con Anaerocult A (Merck) generador de dióxido de carbono (HARRISON et al. 1996).

Enterobacterias se determinaron (37°C, 18-24 h) mediante siembra en superficie de diluciones homogeneizadas (1.0 ml) de la muestra sobre Agar McConkey (Merck). Coliformes totales se determinaron con el procedimiento del número más probable utilizando el medio de cultivo selectivo Caldo-laurilsulfato (Merck) seguido de la confirmación de los tubos gas-positivos en el medio de enriquecimiento selectivo Caldo-Verde brillante-bilis-lactosa (BGBB) (Merck). El período

de incubación en ambos casos es de 24-48 horas a 37 °C (PROKOPOWICH y BLANK, 1991). Para la determinación Coliformes fecales (*Escherichia coli*), se utiliza el medio Caldo-Verde brillante-bilis-lactosa (BGBB) y se incuban los tubos a 44,5 °C durante 24-48 horas.

Para la detección de *Salmonella*, 1,0 ml de la solución de agua de peptona con la muestra incubada durante 24 horas, se añade a 10 ml de Caldo de enriquecimiento selenito (Merck). Además, 10 ml del agua de peptona se adicionan al medio Caldo-tetrationato Muller-Kauffmann (100 ml, Merck) y ambos se incuban a 37°C y 42°C durante 24 horas. Posteriormente, se realiza el aislamiento en Agar sacarosa-lactosa rojo-fenol verde brillante (BPLS) (Merck) y en Agar *Salmonella-Shigella* (SS) mediante siembra en placa y se incuban a 37°C durante 24 horas (TIETJEN y FUNG, 1995). Las colonias sospechosas de

Salmonella-Shigella se someten a test bioquímicos (API 20E, bioMérieux®, Mercy L'Etoile, Francia).

La determinación de cloro libre se realizó con el método de o-toluidina o DPD, que es colorimétrico. Medimos así la oxidación que produce el cloro libre sobre la dialquilo-p-fenilendiamina.

RESULTADOS

A la vista de estos resultados podemos deducir de una forma clara qué puntos son los de máxima contaminación en la línea de elaboración de estos productos. Dichos puntos se resaltarán y sobre ellos se deberá actuar con más frecuencia para mantener controlada la producción.

La figura 1 recoge los pasos de elaboración de ensalada en el centro A. Podemos ob-

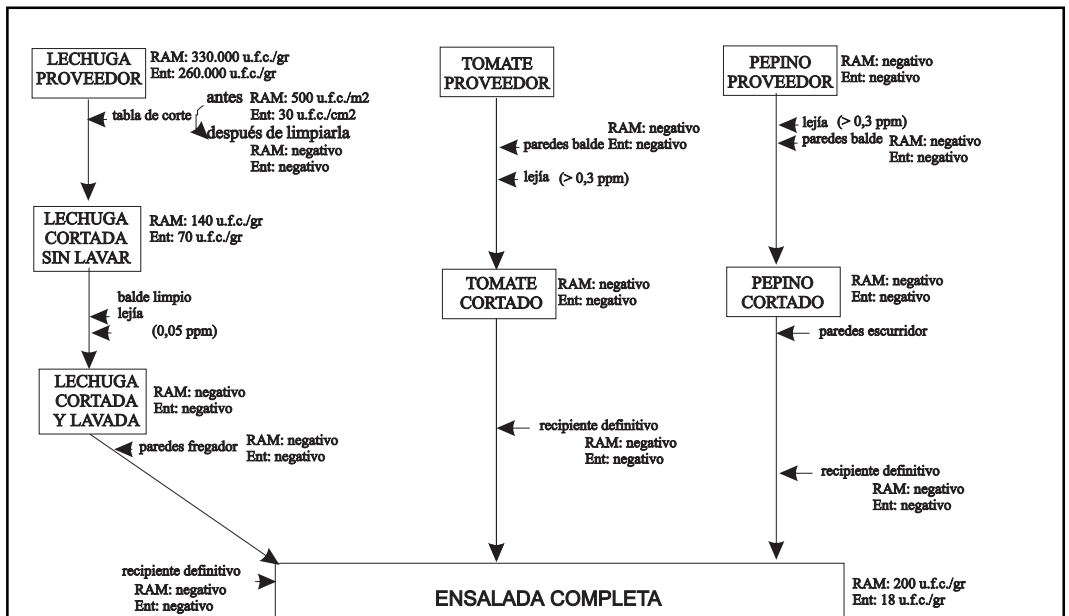


Figura 1. Esquema del muestreo realizado en la línea de elaboración de ensalada en el mes de abril en el campo A.

servar como a pesar de que la materia prima recepcionada presenta elevado el número de bacterias aerobias mesófilas ($3,3 \cdot 10^5$ u.f.c./gr) y enterobacterias ($2,6 \cdot 10^5$ u.f.c./gr), estos niveles disminuyeron drásticamente con el proceso de lavado y clorado llegando a unos niveles de producto final mucho más bajos (recuento de bacterias aerobias mesófilas $0,2 \cdot 10^3$ u.f.c./gr y $1,8 \cdot 10^1$ u.f.c./gr de enterobacterias).

En la figura 1 también recogemos los niveles de hipoclorito detectados en las aguas de lavado. Así se detectó que el nivel de cloro libre después de lavar la lechuga era de 0,05 ppm, mientras que en el tomate los niveles fueron superiores a 0,3 ppm.

En el centro B (figura 2) observamos que la lechuga del proveedor llega muy contaminada (recuento de aerobios mesófilos $6,0 \cdot 10^7$ u.f.c./gr y enterobacterias $0,2 \cdot 10^7$ u.f.c./gr, incluso al desechar las hojas externas (en este

caso la lechuga no era *iceberg*); en este muestreo también recogemos la caída de los niveles microbiológicos de la lechuga, después del tratamiento desinfectante (recuento de aerobios mesófilos $0,7 \cdot 10^3$ u.f.c./gr y enterobacterias $0,3 \cdot 10^3$ u.f.c./gr), de igual forma comprobamos la disminución de estos valores microbiológicos en las superficies de trabajo. En concreto, la tabla de corte utilizada inicialmente para trocear la lechuga estaba muy contaminada (recuento de aerobios mesófilos $2,3 \cdot 10^2$ u.f.c./cm² y enterobacterias $7,8 \cdot 10^1$ u.f.c./cm²), no obstante en la misma tabla después de desinfectada, el recuento de aerobios mesófilos era de $6,0 \cdot 10^1$ u.f.c./cm² y el de enterobacterias, $2,5 \cdot 10^1$ u.f.c./cm²; de forma análoga ocurría para la encimera que antes de limpiarla estaba muy contaminada (recuento de aerobios mesófilos era de $1,9 \cdot 10^2$ u.f.c./cm² y el de enterobacterias, $6,9 \cdot 10^1$ u.f.c./cm²) y

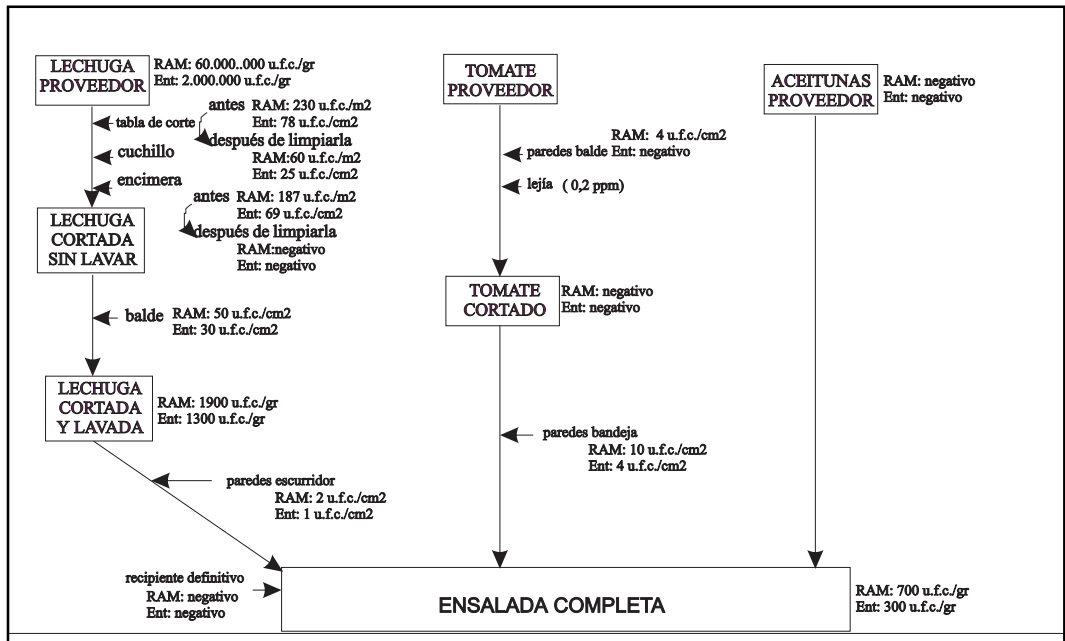


Figura 2. Esquema del muestreo realizado en la línea de elaboración de ensalada en el mes de abril en el Centro B.

después de lavarla, los resultados fueron negativos.

Con respecto a los niveles de hipoclorito detectados en el lavado del tomate son adecuados (0,2 ppm), pero disminuyen en gran escala al lavar la lechuga, por lo que se recomienda el lavado previo bajo el chorro de agua

Por último, el proceso de elaboración de ensalada en el centro C, lo recogemos en la figura 3. Es similar a los anteriores y los valores microbiológicos de los ingredientes mejoran drásticamente, si comparamos los niveles de la materia prima del proveedor, con los niveles posteriores a la desinfección. En concreto, los análisis de la lechuga del proveedor fueron $9,0 \cdot 10^5$ el recuento de aerobios mesófilos y $0,1 \cdot 10^5$ de enterobacterias, mientras que una vez cortada y lavada, el resultado fue de $1,4 \cdot 10^3$ y $0,7 \cdot 10^3$ u.f.c./gr, respectivamente. En este centro, el ingrediente adicional fue la lombarda-

da, que una vez cortada, se desinfecta con lejía de uso alimentario y el resultado del análisis microbiológico es negativo. El punto de contaminación en este caso fue de nuevo la máquina cortadora, pues los resultados de la lombarda cortada eran de $5,0 \cdot 10^3$ u.f.c./gr en el recuento de aerobios mesófilos y $2,5 \cdot 10^3$ u.f.c./gr de enterobacterias.

Debemos también destacar que muestreamos la tabla de corte de la lechuga al terminar de cortar las hojas externas de la misma y estaba muy contaminada. Se desinfectó con agua y lejía antes de empezar a trocear la lechuga y el análisis microbiológico de la tabla de corte resultó negativo.

En este caso, al analizar el cloro libre que resta tras el lavado y desinfección de la lechuga, con el método de o-toluidina o DPD, observamos que la cantidad no es suficiente para una desinfección adecuada, por tanto debere-

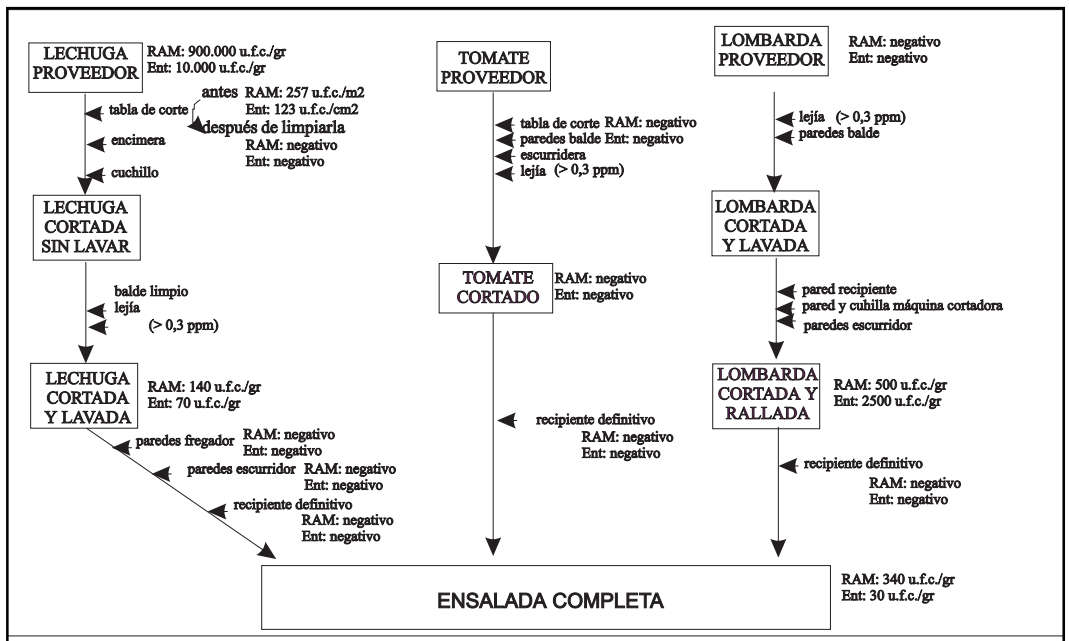


Figura 3. Esquema del muestreo realizado en la línea de elaboración de ensalada en el mes de abril en el Centro B.

mos lavar previamente los ingredientes bajo el chorro de agua.

DISCUSIÓN

A la vista de los resultados en los tres centros recomendamos a los manipuladores de alimentos que siguieran desechando las hojas externas de la lechuga, pues debido a los restos de tierra que llevaban adheridos, presentaban niveles muy altos de aerobios mesófilos y enterobacterias, hecho que desaparecía en las hojas internas; y recomendamos un estricto lavado de los ingredientes bajo chorro de agua antes de adicionarlos a los recipientes de desinfección, para también eliminar los restos de tierra y de materia orgánica y conseguir más efectividad con el hipoclorito (lejía de uso alimentario), dada la carga bacteriana que a veces contenían.

Las concentraciones de hipoclorito utilizadas fueron de 70 ppm (5 minutos) (R.D.2817/83). Aunque podríamos pensar que aumentando la concentración de hipoclorito conseguiríamos mejorar el efecto antimicrobiano, esto no es posible, puesto que nos aparecerían rápidamente señales de oxidación en los vegetales. Sí que podemos potenciar este efecto, disminuyendo ligeramente el pH en torno a 5, con lo que permanecería algo más de tiempo el efecto antimicrobiano (GARCÍA GIMENO et al., 1995).

A pesar de ello, se detectó una serie de puntos en los que la contaminación no disminuía todo lo que cabía esperar, con el tratamiento aplicado; ya que había puntos de difícil limpieza como los cuchillos, tablas de corte; esta situación se subsanó posteriormente haciendo hincapié en la formación del personal y así se consiguió que este punto de contaminación disminuyera.

En un estudio realizado en cantinas en Inglaterra, se observó que la contaminación es difícil de eliminar completamente, aunque con las medidas adecuadas sea fácil reducir la multiplicación bacteriana y la generación de toxina como factores más importantes de riesgo (ALI y SPENCER, 1996).

En los centros A y C los análisis de los recipientes después de su limpieza dan negativos y en el centro B observamos que disminuye de forma importante el recuento bacteriano. Por ello recomendamos que las superficies de trabajo como tabla de corte y los utensilios, como los recipientes utilizados y el cuchillo que contacta directamente con los alimentos, deben ser desinfectados con lejía justo antes de su empleo, puesto que algunos recipientes presentaban cierto nivel de microorganismos, aunque estaban tomadas de las estanterías de material limpio. Probablemente motivado por las partículas de polvo que arrastra el aire circulante, puesto que las instalaciones mantenían sus ventanas abiertas al exterior. Se aconsejó el lavado de las manos después de desechar las hojas externas, para que la contaminación no pase a las hojas más internas.

Utilizaremos toda esta información para elaborar, en algunos casos, límites más bajos aunque sean para funcionamiento interno, pero que nos incrementan la calidad higiénica de nuestros productos (BUCHANAN, 1995).

En el centro C en el que se utilizó la cortadora recomendamos que la cuchilla se ponga a remojo con agua y lejía para evitar que se recontamine, y las paredes de la máquina se deberán limpiar también, justo antes de su utilización.

Con el registro de los datos microbiológicos, nosotros iremos perfilando qué alimentos de los elaborados en nuestras instalaciones, necesitan acentuar su control y

sobre los que se establecen incluso nuevas medidas preventivas, utilizando todos los datos que sobre ellos nos aporten la epidemiología (BRYAN, 1996).

Se hizo mucho hincapié en la formación del personal manipulador, mostrándoles incluso los resultados de las placas de cultivo sembradas durante la elaboración de los alimentos para que evidenciaran la situación anterior y posterior, al lavado de ingredientes y superficies o útiles de trabajo. Esto incide muy positivamente en la elaboración higiénica de los alimentos. También ALTEKROUSE et al. (1996) opinan que conocimientos básicos sobre la microbiología pueden motivar a realizar prácticas más higiénicas.

Es interesante señalar que las fuentes de contaminación de los manipuladores de alimentos, consideradas recientemente por BRILL y SCHMIDT (1995) son la ropa, las manos, saliva, exudado nasal y el pelo; y una formación inadecuada del manipulador conlleva prácticas poco higiénicas, por lo que estos autores recomiendan un programa de control microbiológico, además de un cuidado personal, cambios de ropa regularmente, cuidado de manos, incluyendo lavado y desinfección. De hecho GARCÍA GIMENO et al. (1995), afirman que la manipulación humana supone un riesgo, ya que podrían contaminar con gérmenes patógenos el producto o el equipo que utilizan. Por ello, además de la higiene personal y la limpieza del equipo que tengan los manipuladores en sus puntos de trabajo, la salud de ellos es otro punto crítico a controlar, formando, informando y dando todas las facilidades posibles sobre los controles médicos que deben llevar.

Conclusión

Se consiguió aumentar el margen de seguridad que tenemos al ingerir un alimento crudo, puesto que no lleva proceso posterior de cocinado, que minimizaría el número de microorganismos. Con estos resultados se dista mucho de los límites fijados por la norma microbiológica correspondiente.

BIBLIOGRAFÍA

- ALI A.A., SPENCER N.J. 1996. Hazard Analysis and Critical Control Point Evaluation of School Food Programs in Bahrain. *J. Food Protect.* 59 (3): 282-286.
- ALTEKROUSE S., STREET D., FEIN S., LEVY A. 1996. Consumer knowledge of foodborne microbial hazards and food handling practices. *J. Food Protect.* 59 (3): 287-294.
- ANGELOTTI, R.; HALL, H.E.; FOTER, M.J.; LEWIS, K.M. 1962. Quantitation of *Clostridium perfringens* in foods. *Appl. Microbiol.* 10: 193-199.
- APHA. 1981. American water works Association and Water Pollution Control Federation: Standard Methods for the examination of water and wastewater. 15th ed., Washington.
- APHA. 1984. Compendium of methods for the microbiological examination in foods. 2nd ed. Washington.
- APHA. 1985. Standard Methods for the Examination of Dairy products, 15th edition. Washington.
- BAIRD-PARKER, A. C. 1971. Factors affecting the production of bacterial food poisoning toxins. *Journal of Applied Bacteriology.*

- BRYAN, FRANK L. 1988. Risk of practices, producers and processes that lead to outbreaks of fooborne diseases. *J. Food Protect.* 51: 663-673.
- BRYAN, FRANK L. 1990. Application of HACCP to Ready-to-Eat Chilled Foods. *Food Tech.* 6: 70-77.
- BRYAN, FRANK L. 1996. Another Decision-Tree Approach for Identification of Critical Control Points. *J. Food Protect.* 59 (11): 1242-1247.
- BRILL, H.; SCHMIDT, J. 1995. Personal Hygiene in food factories: awaken an understanding. *Lebensmitteltechnik* 27 (10): 47-49.
- BUCHANAN, ROBERT L.; WHITING, R. C. 1996. Risk assessment and predictive microbiology. *J. Food Protect. Suppl.* 31-36.
- DIN Deutsches Institut für Normung e.V.: Mikrobiologische Milchunter-suchung. Bestimmung der coliformen Keime. Referenzverfahren DIN 10172.
- DIN Deutsches Institut für Normung e.V.: Nachweis Koagulase positiver Staphylokokken. Referenzverfahren für Milchpulver. DIN 10178.
- DIN Deutsches Institut für Normung e.V.: Mikrobiologische Milchuntersuchung. Nachweis von Salmonellen. Referenzverfahren DIN 10181.
- DIN Deutsches Institut für Normung e.V.: Untersuchung von fleisch und fleischerzeugnissen. Nachweis von Salmonellen. Referenzverfahren DIN 10160.
- DIN Deutsches Institut für Normung e.V.: Bestimmung Koagulase positiver Staphylokokken. Referenzverfahren. DIN 10163.
- EHIRI, J.E.; MORRIS, G.P. 1994. Food safety control strategies: A critical review of traditional approaches. *Int. J. Environ. Health Res.* 4: 254-263.
- EHIRI, JOHN E.; MORRIS, GEORGE P.; MCEWEN, JAMES. 1995. Implementation of HACCP in food businesses: The way ahead. *Food Control* 6: 341-345.
- GARCÍA GIMENO, R.M.; ZURERA COSANO, G.; AMARO LÓPEZ, M. 1995. Conservación de los alimentos mediante atmósfera modificada. *Vegetales de IV gama. Alimentaria*, Noviembre 95/89: 89-104.
- GELLIN, B.G.; BROOME, C.V. 1989. Listeriosis. *J. Am. Med.Assoc.* 261: 1313-1320.
- ICMSF. 1991. El sistema de análisis de riesgos y puntos críticos. Su aplicación a industrias de alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza.
- ISO. 1975. Meat and meat products. Detection of Salmonella. International Standard ISO 3565. Draft International Standard ISO/DIS 3811.
- ISO. 1975. Meat and meat products. Detection and enumeration of presumptive coliform bacteria and presumptive *Escherichia coli*.
- ISO. 1977. Meat and meat products. Detection and enumeration of *Staphylococcus aureus*. Draft International Standard ISO/DIS 5551.
- KAUFFMANN, F. 1930. Ein kombiniertes Anreicherungsverfahren für Typhus- und Paratyphusbazillen. *Zbl. Bakt. I. Orig.* 119: 148-152.
- KAUFFMANN, F. 1935. Weitere Erfahrungen mit dem kombinierten Anreicherungsverfahren für Saalmonellenbacillen. *Z. Hyg. Infekt. Krkh.* 117: 26-32.
- LEIFSON, E. 1936. New selenitte enrichment media for the isolation of typhoid and

- paratyphoid (*Salmonella*) bacilli. Am.J.Hyg. 24: 423-432.
- LMGB 1971. Bundesgesundheitsamt: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 Beuth Verlag Berlin, Köln.
- KOLOZYN-KRAJEWSKA, D. 1995. Assured microbiological quality of foods. Przemysl Spozywczy 49 (6): 192-195.
- MADDEN, J.M. 1990. *Salmonella enteritidis* contamination of whole chicken eggs. Dairy Food Environ. San. 10: 268-270.
- MALLMANN, W.L.; BARBY, C.W. 1941. Use of lauryl sulphate tryptose broth for the detection of coliform organisms. Am. J.Publ.Health, 31: 127-134.
- MARSHALL, R.S.; STEENBERGEN, J.F.; MCCLUNG, L.S. 1965. Rapid technique for the enumeration of *Clostridium perfringens*. Appl. Microbiol. 13: 559-563.
- MCDONALD, K.L.; O'LEARY, M.J.; COHEN, M.L. 1988. *Escherichia coli* 0157:h7, an emerging gastrointestinal pathogen: results of a one year prospective population based study. JAMA 259: 3567-3570.
- MORENO, B. 1989. Posibilidades de implantación del sistema de análisis de riesgos e identificación y control de puntos críticos para generalizar la inocuidad de los alimentos y su calidad microbiológica. XII Congreso Nacional de Microbiología. I. Pamplona, septiembre.
- MOSSEL, D.A. 1959. Enumeration of sulphite reducing clostridia occurring in foods. J.Sci.Food Agr. 10: 662-669.
- MOSSEL, D.A.; BUKER, P.G.; EELDERING, J. 1978. Streptokokken del LancefieldGruppe D in Lebensmitteln und Trinkwasser-thre Bedeutung, Erfassung und Bekämpfung. Arch. f Lebensmittelhyg 29: 121-127.
- MOSSEL, D.A.; KLEYNEN-SEMMELING, A.M.; VINCENTE, H.M. 1970. Oxytetracycline-Glucose—Yeast Extract Agar for selective anumeration of moulds and yests in foods and clinical material. J.Appl.Bact. 33:454-457.
- MULLER, L. 1923. Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typique et des paratypiques. Comp. Rend. Soc. biol. 89: 434-437.
- NOTERMANS, S.; ZWIETERING; MEAD, G.C. 1994. The HaACCP concept: identification of potentially hazardous microorganisms. Food Microbiol. 11: 203-214.
- PASCUAL ANDERSON, M.R. 1989. Microbiología alimentaria: Detección de bacterias con significado higiénico-sanitario. Ed. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid.
- ROBERTS, D. 1990. Sources of infection: Food. The lancet 336: 859-861.
- R.D. 2817/ 1983, de 13 de Octubre, Reglamentación Técnico-Sanitaria de los Comedores Colectivos. B.O.E. 11-noviembre-1983.
- REPORT WHO Surveillance Programme for control of foodborne infections and intoxications in Europe. 1991. FAO/WHO collaborating centre for research and training in food hygiene and zoonosis, Berlin.
- SIMPSON, D. M. 1996. Microbiology and epidemiology in foodborne disease outbreaks: The whys and when Nots. J. Food Protect. 59 (1): 93-95.
- ST. LOUIS, M.E.; MORSE, D.L.; POTTER, M.E. 1988. The emergence of grade A eggs as a major source of *Salmonella enteritidis* infections. J.Am.Med.Assoc. 259: 2103-2107.

- UNITED STATES PHARMACOPOEIA XXI, Kapitel «Microbial Limit Test».1985.
- VAN SCHOTHORST, M. 1991. Food manufacture and processing for safety: The challenge ahead. Food Contr. 10: 220-223.
- WEHR, H. MICHAEL. 1991. Comments from Oregon Department of Agriculture. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 74 (2): 418-419.
- WEINGOLD, STEVEN E.; GUZEWICH, JOHN J.; FUDALA, JOHN K. 1994. Use of foodborne disease data for HACCP risk assessment. J. Food Protect. 57 (9): 820-830.
- WHITING, R.C. 1995. Microbial modeling in foods critical reviews in food service and nutrition 35 (6): 467-494.